

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Estudio epidemiológico descriptivo y aspectos ético-legales
del programa de detección y asesoramiento genético de la
Comunidad de Madrid en la consulta de cáncer familiar de
mama y ovario**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Natalia Fernanda Pascual Gómez

DIRECTORES

María Concepción Alonso Cerezo
Fernando Bandrés Moya

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Estudio epidemiológico descriptivo y aspectos ético-legales
del programa de detección y asesoramiento genético
de la Comunidad de Madrid en la consulta de
cáncer familiar de mama y ovario**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Natalia Fernanda Pascual Gómez

Directores:

María Concepción Alonso Cerezo

Fernando Bandrés Moya

Madrid, 2020

© Natalia F. Pascual Gómez 2020

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina legal, Psiquiatría y Patología

Programa de Doctorado en:

Investigación en Ciencias Médico Quirúrgicas



**ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DESCRIPTIVO Y ASPECTOS
ÉTICO-LEGALES DEL PROGRAMA DE DETECCIÓN Y
ASESORAMIENTO GENÉTICO DE LA COMUNIDAD DE MADRID
EN LA CONSULTA DE CÁNCER FAMILIAR DE MAMA Y OVARIO**

MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR POR

Natalia Fernanda Pascual Gómez

Bajo la dirección de los doctores:

Dra. María Concepción Alonso Cerezo

Prof. Dr. Fernando Bandrés Moya

Madrid, 2020



Memoria presentada por D^a. Natalia Pascual Gómez para optar al grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid. Madrid, septiembre 2020.

El trabajo presentado ha sido realizado en la Unidad de Cáncer Familiar del Hospital Universitario de la Princesa. Ha contado con la colaboración de la Cátedra E. Complutense de Diagnóstico e Innovación Roche-UCM en el apoyo logístico y gestión del trabajo y con la Ayuda a la Investigación Santander-UCM PR41/17.



Los Doctores:

D^a Concepción Alonso Cerezo, Genetista Clínica y facultativa
especialista de Análisis Clínicos en la Unidad de Cáncer Familiar del
Hospital Universitario de la Princesa.

D. Fernando Bandrés Moya especialista en Análisis Clínicos y
Profesor Titular en la Facultad de Medicina de la Universidad
Complutense de Madrid.

Informan:

La tesis doctoral presentada por D^a. Natalia Fernanda Pascual Gómez
con el título “Estudio epidemiológico descriptivo y aspectos ético-legales del
programa de detección y asesoramiento genético de la Comunidad de Madrid
en la consulta de cáncer familiar de mama y ovario” ha sido realizada bajo
nuestra dirección, siendo expresión de la capacidad técnica e interpretativa de
su autor, en condiciones tan aventajadas que le hacen acreedora al título de
Doctor.

Y para que así conste, firmamos el presente en Madrid a día 28 de septiembre
de dos mil veinte.

Fdo.: Concepción Alonso Cerezo

Fdo.: Fernando Bandrés Moya

*“La única posibilidad de descubrir los límites de lo posible es
aventurarse un poco más allá de ellos, hacia lo imposible”*

Arthur C. Clarke

A mi padre José Luis, a mi
marido Carlos y a mis hijos Jose
Carlos y Alejandro con todo mi
corazón.

Agradecimientos

Muchas son las personas que de un modo u otro me han ayudado a lo largo de los años que ha durado esta tesis doctoral, tanto a nivel personal como profesional, y me gustaría transmitir mi profundo agradecimiento.

Mi especial reconocimiento a mis directores de tesis por haberme dado la posibilidad de realizar esta tesis doctoral, la Dra. María Concepción Alonso Cerezo por haberme motivado a realizar la tesis y por enseñarme que aunque las cosas se pongan difíciles la perseverancia es una aliada fuerte del éxito, y al Dr. Fernando Bandrés Moya, por su apoyo incondicional y por adentrarme en el maravilloso mundo de la ética y la medicina legal. Gracias a ambos por vuestra paciencia y por haber confiado en mí.

Gracias a la Universidad Complutense de Madrid y a la facultad de Medicina, por hacer posible mi crecimiento personal y profesional con la realización de este trabajo de investigación.

Gracias al Hospital Universitario de la Princesa, donde comenzó mi experiencia laboral e investigadora, donde aparte de adquirir grandes conocimientos y crecer profesionalmente, me ofreció compartir unos años con gente maravillosa. Quería agradecer a Elena Fernández y Paqui del Laboratorio de Biología Molecular el apoyo fundamental para la parte experimental. Y de manera especial, muchas gracias a mis compañeros del Servicio de Análisis Clínicos, todos y cada uno de vosotros, por demostrarme lo que es un gran equipo de compañerismo y por las largas jornadas inagotables compartidas. Gracias por la compañía, risas, apoyo, consejos y ayuda prestada. Nunca olvidaré esos momentos que hemos pasado en nuestro despacho, en nuestro escondite, en las auditorías o durante las

guardias, o en nuestra salita para el café doble, sin duda ratitos que me llenaban de energías para seguir adelante. Gracias a los que os habéis ido, a los que aún estáis, y a los recién llegados. Son muchos los momentos compartidos y os aseguro que gracias a vosotros esta tesis ha sido posible, porque hay en ella algo de cada uno de vosotros. Mil gracias por tratarme con tanto cariño y dulzura hacéis que me sienta muy afortunada.

Quiero transmitir mi agradecimiento a la Unidad de Cáncer Familiar y al Laboratorio de Oncología molecular del Hospital Universitario Clínico San Carlos. A todos mis amigos por compartir tanto los buenos como los malos momentos, a mi amigo y compañero de estudio, a mis costureras por vuestra larga espera y a mi funcionario preferido por sus largos ratos de escucha y en especial a ti Elena Mirón por haberme premiado con tu gran amistad. A mis amigos Ana Arteche y Juan Fran por vuestros consejos, vuestra ayuda y vuestra amistad que han sido fundamentales para mí.

Muchísimas gracias a toda mi familia, porque sois lo más importante, por vuestro cariño incondicional y vuestro apoyo.

Gracias Mamá, por tus ánimos, tu dedicación, fortaleza, por tu amor y por enseñarme a disfrutar con alegría de todo lo que nos ofrece la vida.

A mi marido Carlos, no tengo palabras. Gracias por todo, tu apoyo, paciencia, ayuda, comprensión, eres único y especial. Gracias por quererme tanto y ser mi apoyo cuando más lo necesito, por compartir tu vida conmigo y por ir añadiendo juntos fotos al álbum de la vida.

A mis dos soles, Jose Carlos y Alejandro, por iluminar mis días grises con vuestro amor, energía y alegría y por recordarme que lo más importante en la vida es compartir el tiempo con las personas que quieres.

A mis hermanos José Luis y Mónica, por vuestro cariño, por los momentos compartidos, por ser mis confidentes y simplemente por ser mis hermanos y amigos a la vez.

A la abuela Nieves y al abuelo Pepe por vuestro cariño y apoyo incondicional, en especial por esas tardes y esos domingos de juegos con los niños que perdonaban mi ausencia y me permitieron sacar tiempo para escribir esta tesis doctoral.

Pero en especial te lo dedico a ti papá, como un homenaje a ti, por todo lo que me enseñaste y todo el amor que me diste. Pese a que, desde hace 10 años no puedes leer estas páginas, permanece en mi recuerdo tu alegría y celebración ante mis logros personales.

ÍNDICE

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	9
ÍNDICE DE TABLAS.....	12
RESUMEN.....	19
SUMMARY.....	23
I. INTRODUCCIÓN.....	27
1.1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA.....	29
1.2. GENÉTICA DEL CÁNCER DE MAMA FAMILIAR Y EL SOLAPAMIENTO ENTRE LOS SÍNDROMES DE CÁNCER HEREDITARIO	31
1.3. INFORMACIÓN GENÉTICA Y ASESORAMIENTO.....	35
1.4. PROGRAMA DE DETECCIÓN Y ASESORAMIENTO DE CÁNCER FAMILIAR EN LA COMUNIDAD DE MADRID	41
1.4.1. Estructura de las unidades de cáncer familiar	44
1.4.2. Análisis del riesgo según criterios clínicos	46
1.4.3. Estudio o prueba genética.....	52
1.4.4. Seguimiento y terapéutica.....	60
1.5. LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS Y EL ASESORAMIENTO GENÉTICO.....	65
1.5.1. Búsqueda de nuevos genes candidatos	66
1.5.2. Secuenciación masiva o secuenciación de próxima generación (NGS) ..	72
1.5.3. Clasificación de variantes genéticas	78
1.5.4. Hallazgos incidentales o secundarios	86
1.5.5. Riesgo por acumulación de polimorfismos	88
1.6. MARCO BIOÉTICO DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO	90
1.6.1. Principio de autonomía.....	90
1.6.2. Principio de beneficencia.	91
1.6.3. Principio de no maleficencia (<i>primum non nocere</i>)	92
1.6.4. Principio de justicia.....	92
1.6.5. Conflictos éticos	92
1.7. MARCO LEGAL DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO	96
1.7.1. Marco legal internacional	98
1.7.2. Marco legal europeo.....	99
1.7.3. Marco legal nacional.....	101
1.8. EL CONSENTIMIENTO INFORMADO	110
1.8.1. Ámbito asistencial.....	112
1.8.2. Ámbito de investigación	113

1.8.3. Aspectos psicosociales	113
II. JUSTIFICACIÓN	118
III. HIPÓTESIS	120
IV. OBJETIVOS	122
V. MATERIALES Y MÉTODOS	124
5.1. Población de referencia	126
5.2. Estructura de la Unidad de Cáncer Familiar del HULPR:	127
5.3. Descripción de los procesos de la Unidad de Cáncer Familiar	127
5.4. Diseño y población de estudio	135
5.5. Criterios de inclusión y exclusión	140
5.6. Consentimiento informado y aprobación del comité ético	140
5.7. Obtención de las muestras	140
5.8. Extracción de DNA genómico	141
5.9. Estudio Molecular de los genes <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> :	142
5.10. Cuantificación de DNA genómico	143
5.11. Estudio Molecular de genes <i>BRCAX</i> :	147
5.11.1. Selección del Panel de genes:	147
5.11.2. Parámetros de calidad:	151
5.11.3. Preparación de librerías	155
5.11.4. Estudio bioinformático	165
5.11.5. Análisis de datos e interpretación de resultados:	166
5.12. Influencia de los polimorfismos en la estimación del riesgo:	167
5.12.1. Cálculo del score	168
5.12.2. Estimación del riesgo pretest de cáncer a los 10 años y a lo largo de la vida e influencia del score	169
5.13. Análisis estadístico	170
VI. RESULTADOS	171
6.1. Características demográficas generales	172
6.1.1. Distribución por sexo	173
6.1.2. Distribución por edad	173
6.1.3. Distribución por procedencia	174
6.2. Características de susceptibilidad genética generales	175
6.2.1. Distribución por historia personal y familiar	175
6.2.2. Distribución por clasificación clínica del riesgo pretest	176
6.2.3. Distribución por tipo de criterio clínico de alto riesgo	177
6.2.4. Distribución según procedencia y criterio de riesgo	180
6.2.5. Distribución por resultado del análisis de <i>BRCA1/BRCA2</i>	181

6.3. Características de los casos índices	181
6.3.1. Distribución según variables demográficas y de riesgo	181
6.3.2. Distribución según criterio clínico de riesgo	183
6.3.3. Distribución según características del tumor	184
6.3.4. Desarrollo de otros tumores posteriores	186
6.3.5. Análisis de los resultados de la prueba genética de <i>BRCA1/BRCA2</i>	187
6.4. Características de los estudios familiares	190
6.4.1. Distribución según variables demográficas.....	190
6.4.2. Distribución según historia personal y características del tumor	191
6.4.3. Distribución según criterio clínico de riesgo	192
6.4.4. Análisis de los resultados de la prueba genética de <i>BRCA1/BRCA2</i>	192
6.4.5. Análisis de portadores sanos	192
6.5. Búsqueda de variantes en otros genes no <i>BRCA1/BRCA2</i>	194
6.5.1. Características de la muestra experimental.....	194
6.5.2. Análisis de las variantes detectadas en <i>BRCAX</i>	197
6.5.3. Análisis de la influencia de los polimorfismos en la estimación del riesgo de cáncer de mama.	200
6.5.4. Estudio de RAD51D: a propósito de un caso.....	210
VII. DISCUSIÓN	211
7.1. Análisis epidemiológico de la población:.....	212
La población de estudio y características epidemiológicas.....	212
Resultados del análisis de <i>BRCA1/BRCA2</i>	218
7.2. Panel de secuenciación masiva:	224
Resultados del estudio de variantes monogénicas	224
Influencia de los polimorfismos en la estimación del riesgo.....	233
7.3. Discusión ético legal	235
Respecto a la formalización legal de la especialidad de genética y su programa formativo.	235
Uso de secuenciación masiva (NGS) para la realización de pruebas genéticas. 236	
Respecto al uso de paneles multigénicos y la estrecha relación entre la asistencia clínica y la investigación	238
Comunicación de resultados y discordancias en la interpretación de variantes 241	
7.4. Recomendaciones de actualización del programa de detección y asesoramiento de la Comunidad de Madrid.....	243
Limitaciones y perspectivas futuras.....	244
VIII. CONCLUSIONES	246

	En relación con los objetivos primarios:	247
	En relación con los objetivos secundarios:.....	248
IX.	BIBLIOGRAFÍA	250
X.	ANEXOS	276
	Anexo I. Aprobación del estudio experimental por el Comité de Ética de La Investigación del HULPR.....	277
	Anexo II. Cálculo de los Scores de riesgo de las 47 pacientes del estudio experimental.	278
	Anexo III. Árboles genealógicos y estimación del riesgo de las pacientes de la muestra experimental con IBIS RISK CANCER VS 8.0.....	320
	Anexo IV. Publicaciones y ponencias relacionadas con la tesis doctoral	333
	Anexo V. Hoja de información al paciente y modelo de CI del proyecto	342
	Anexo VI. Premios y ayudas concedidas	348

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Diagrama esquemático de factores de riesgo para cáncer de mama. Adaptado de Sun YS et al.	30
Ilustración 2. Arquitectura genética del cáncer de mama. Adaptado de Ghoussaini et al.....	33
Ilustración 3. Contribución de las variantes genéticas en genes de distinta penetrancia al desarrollo del cáncer de mama. Adaptada de Couch et al.	34
Ilustración 4. Procesos clínicos del programa de detección y asesoramiento cáncer familiar de la Comunidad de Madrid.	43
Ilustración 5. Procesos en las Unidades de Cáncer Familiar	46
Ilustración 6. Análisis de la externalización de pruebas genéticas en España 2010.	53
Ilustración 7. Representación de la externalización de pruebas genéticas en la Comunidad de Madrid 2010.	57
Ilustración 8. Procesos de trabajo en secuenciación de próxima generación (NGS). Adaptado de Serrati et al.....	76
Ilustración 9. Modelos de Asesoramiento Genético.....	91
Ilustración 10. Evolución temporal del desarrollo legal respecto a datos genéticos.....	97
Ilustración 11 Aspectos psicosociales según el resultado de la prueba genética.	116
Ilustración 12. Organigrama de trabajo para la elaboración de la tesis doctoral.	126
Ilustración 13. Mapa sanitario de la Comunidad de Madrid.	126
Ilustración 14. Procesos de la Unidad de Cáncer Familiar 2006. Fase pre analítica.....	129
Ilustración 15. Procesos de la Unidad de Cáncer Familiar 2017. Fase pre analítica.....	130
Ilustración 16. Procesos de la Unidad de Cáncer Familiar. Fase analítica y pos analítica.....	131
Ilustración 17. Proceso de soporte de la UCF. Fase pre analítica.....	132
Ilustración 18. Proceso de soporte de la UCF. Continuación fase pre y comienzo fase pos analítica.	133
Ilustración 19. Proceso de Soporte de la UCF. Fase pos analítica continuación.	134
Ilustración 20. Organización para la realización de los análisis genéticos....	139
Ilustración 21. Organigrama de trabajo de la fase experimental.....	139
Ilustración 22. Magna Pure LC 2.0 Roche Diagnostic.	141
Ilustración 23. Procesos básicos de la extracción de DNA genómico. Adaptado de Roche Diagnostics.	142

Ilustración 24. Fluorímetro Quantus de Promega.	143
Ilustración 25. Parámetros de calidad de la primera carrera NGS.....	151
Ilustración 26. Parámetros de calidad segunda carrera de NGS.....	152
Ilustración 27. Visualización con el programa IGV de las pacientes 28,32 y 14 la presencia de la variante NM_033084.5:c.1275_1278+5delCTTAGTAAGinsTTTAT.....	154
Ilustración 28. <i>Organigrama de trabajo para la preparación de las librerías.</i>	155
Ilustración 29. Secuencia temporal de preparación de librerías.	155
Ilustración 30. Equipo para la determinación del tamaño de los fragmentos de DNA.....	160
Ilustración 31. Célula de flujo.....	161
Ilustración 32. Equipo de secuenciación de nueva generación Miseq de Illumina del HULPR.	162
Ilustración 33. Cálculos de la primera carrera para la inyección de la muestra y el fago en el cartucho.	163
Ilustración 34. Cálculos de la tercera carrera para la inyección de la muestra y el fago en el cartucho.	164
Ilustración 35. Procesos a realizar por un Pipeline bioinformático.....	166
Ilustración 36. Ecuación para el cálculo del Score de riesgo asociado al cáncer de mama y ovario (Adaptado de Hongyan Li et al.)	169
Ilustración 37. Evolución de la demanda de la consulta de cáncer familiar..	172
Ilustración 38. Histograma de frecuencias de la variable Edad de la población atendida	174
Ilustración 39. Casos índices vs familiares	175
Ilustración 40. Distribución por estimación de riesgo según criterios clínicos.	176
Ilustración 41. Diferencias en la clasificación del riesgo según la guía clínica utilizada.	177
Ilustración 42. Tipo de Criterio de alto riesgo de cáncer de mama (CM) y ovario (CO) hereditario según CAM 2005.	178
Ilustración 43. Clasificación según criterios clínicos vs procedencia.	180
Ilustración 44. Distribución de los casos índices según paridad.....	182
Ilustración 45. Distribución de los casos índices según edad de diagnóstico	183
Ilustración 46. Distribución de los casos índices según tipo de tumor diagnosticado	184
Ilustración 47. Distribución según tipo histológico de cáncer de mama en los casos índices.....	184
Ilustración 48. Distribución de los casos índices según perfil inmunohistoquímico.	185
Ilustración 49. Distribución según el desarrollo y tipo de cáncer posterior. ...	186

Ilustración 50. Tipo de variantes detectadas tras el análisis de BRCA1/BRCA2	187
Ilustración 51. Distribución de los casos índices según la relación entre la detección de variante y el número de casos afectados en la familia.....	189
Ilustración 52. Distribución de los casos índices según la relación entre la detección de variante y el tipo de cáncer.	190
Ilustración 53. Distribución de los familiares por sexo.	191
Ilustración 54. Distribución según tipo de cáncer en familiares afectados.....	191
Ilustración 55. Distribución de variantes patogénicas o probablemente patogénicas en familiares sanos.	193
Ilustración 56. Elección sobre la opción de cirugía profiláctica en familiares portadores sanos.....	193
Ilustración 57. Tipo de variantes detectada en los distintos grupos de edad.	200
Ilustración 58. Relación de la estimación del riesgo a los 10 años y la misma con la influencia del score.	208
Ilustración 59. Área bajo la curva ROC del score como predictor de variante patogénicas o probablemente patogénicas.	209
Ilustración 60. Algoritmo de eficiencia diagnóstica de la UCF para BRA1/BRCA2.	219
Ilustración 61. Árbol genealógico de la paciente 10.	231
Ilustración 62. Árbol genealógico de la paciente 9	231

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios clínicos de riesgo Comunidad Autónoma de Madrid (CAM) 2005.	47
Tabla 2. Criterios para realización de la prueba genética síndrome de mama y ovario hereditario. SEOM 2015.	49
Tabla 3. Características de las herramientas informáticas de cálculo del riesgo de cáncer de mama y ovario.	50
Tabla 4. Descripción de la externalización de pruebas genéticas en España año 2010.	53
Tabla 5. Distribución de consultas de genética y laboratorios de análisis genéticos en España año 2019.	54
Tabla 6. Descripción de la externalización de pruebas genéticas en la Comunidad de Madrid año 2010.	56
Tabla 7. Distribución de consultas y laboratorios de análisis genéticos en la Comunidad de Madrid año 2019.	57
Tabla 8. Criterios mínimos de un informe de resultados genéticos por NGS. Adaptado de Soto et al.	59
Tabla 9. Evidencias y Recomendaciones a portadores de variantes patogénicas en BRCA. Adaptado de SEOM 2019.	61
Tabla 10. Estrategias de reducción del riesgo quirúrgicas en portadores de Variantes patogénicas BRCA1 y BRCA2.	62
Tabla 11. Estrategias de quimio prevención en portadoras de Variantes Patogénicas BRCA1 o BRCA2.	63
Tabla 12. Estrategias de tratamiento en portadoras de Variantes Patogénicas en BRCA1 o BRCA2.	63
Tabla 13. Seguimiento de mujeres sin detección de Variantes patogénicas en BRCA e historia familiar de alto riesgo.	64
Tabla 14. Genes modificadores del riesgo de desarrollo de cáncer de mama y ovario hereditario (Adaptado de Kobayashi et al.)	67
Tabla 15. Clasificación de variantes probabilística multifactorial IARC. Adaptado de Eccles et al.	80
Tabla 16. Interpretación de las categorías de clasificación de variantes de la Sociedad Americana 2015. Traducido de Sue Richards et al.	81
Tabla 17. Combinaciones de categorías de clasificación de variantes de la Sociedad Americana 2015. Traducido de Sue Richards et al.	84
Tabla 18. Implicaciones médicas, éticas, legales y sociales de la introducción de la secuenciación genómica en los sistemas de salud.	109
Tabla 19. Descripción de los 94 genes incluidos en el panel de TruSight Cancer de Illumina.	148

Tabla 20. Descripción de los 287 polimorfismos incluidos en el panel TruSight Cancer de Illumina.	149
Tabla 21. Distribución de las pacientes en los dos ensayos de NGS	156
Tabla 22. <i>Cálculos para normalizar muestras primera librería a 5ng/mcL</i>	157
Tabla 23. <i>Cálculos para normalizar muestras tercera librería a 5ng/mcL</i>	157
Tabla 24. Cuantificación de la primera librería después del primer día, distribución de las muestras en los pooles y cuantificación de los pooles.	158
Tabla 25. Cuantificación de la tercera librería después del primer día, distribución de las muestras en los pooles y cuantificación de los pooles.	159
Tabla 26. Tamaño de los fragmentos de los pooles de ambas librerías	161
Tabla 27. Bases de datos consultadas para la interpretación de variantes. ..	167
Tabla 28. Polimorfismos relacionados con el desarrollo de cáncer de mama y ovario estudiados para el cálculo del Score de riesgo.	168
Tabla 29. Características demográficas de la población de referencia atendida en la consulta de cáncer familiar.	172
Tabla 30. Datos disponibles de la variable Edad de la población atendida. ..	173
Tabla 31. Distribución de frecuencias en los grupos de riesgo según criterios clínicos utilizados.	177
Tabla 32. Frecuencias según tipo de criterio de alto riesgo según guía CAM 2005.	178
Tabla 33. Frecuencia de tipo de criterio de alto riesgo según guía clínica SEOM 2015.	179
Tabla 34. Principales características de los casos índices	182
Tabla 35. Resumen de las principales características del tumor en casos índices.	185
Tabla 36. Descripción de las variantes patogénicas en BRCA1/BRCA2.	187
Tabla 37. Descripción de las VSD.	189
Tabla 38. Características del tumor y de riesgo de la muestra experimental.	195
Tabla 39. Variantes (patogénicas o probablemente patogénicas + VSD) procedentes del análisis de secuenciación masiva.	197
Tabla 40. Interpretación y clasificación ACMG de las variantes probablemente patogénicas y patogénicas.	199
Tabla 41. Análisis del riesgo de cáncer por efecto sumatorio de la presencia de polimorfismos	202
Tabla 42. Tabla comparativa de características epidemiológicas de la población atendida en las UCF del HUGM y el HULPR.	216
Tabla 43. Incidencia de variantes patogénicas en España desglosado por comunidades autónomas. Adaptado de Pajares et al.	220
Tabla 44. Variantes patogénicas coincidentes en el análisis comparativo del HUGM y HULPR	221

Tabla 45. Comparación entre centros de la comunidad de Madrid de los resultados de VSD y polimorfismos obtenidos de la realización del estudio genético.....	222
Tabla 46. VSD susceptibles de reclasificarse en variantes patogénicas o probablemente patogénicas.	223
Tabla 47. Recomendaciones de la NCCN de seguimiento en portadores de VP en ATM, CHEK2 y MSH6 .(40).....	228

ABREVIATURAS

A

ACMG

Colegio Americano de Genética y Genómica Médica 88

AE

Atención Especializada 128

AEGH

Asociación Española de Genética Humana 52

AG

Asesoramiento Genético 28, 66

AP

Atención Primaria 128

B

BBDD

Bases de datos 225

BCRAT

Breast Cancer Risk Assessment Tool 50

BOADICEA

Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm model 50

C

CAM

Comunidad Autónoma de Madrid 47

CCR

Cáncer colorectal 229

CI

Consentimiento Informado 37, 79

CM

Cáncer de mama 179

CNIO

Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas 41

CO

Cáncer de Ovario 179

E

EBMG

European Clinical Laboratory Geneticist 79

EDTA

ácido etilendiaminotetraacético 141

ENIGMA

Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles	38
--	----

H

HUGM

Hospital Universitario Gregorio Marañón	217
---	-----

HULPR

Hospital Universitario de la Princesa	127
---	-----

I

IARC

Agencia internacional de Investigación del Cáncer	29
---	----

IBIS

International Breast Cancer Intervention Study model	50
--	----

IGV

Integrative Genomics Viewer	154
-----------------------------------	-----

INE

Instituto Nacional de Estadística.....	29
--	----

L

LIB

▣ Ley de Investigación Biomédica	104
--	-----

LOPD

▣ Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos Personales.....	102
---	-----

M

mcL

microlitro	144
------------------	-----

MLPA

Multiple Ligation Probe Amplification	143
---	-----

N

NCCN

National Comprehensive Cancer Network.....	34
--	----

NCI

Instituto Nacional del Cáncer.....	214
------------------------------------	-----

ng

nanogramo	144
-----------------	-----

NGS

Secuenciación masiva	59
----------------------------	----

NICE

National Institute for Health and Care Excellence	238
---	-----

O

OECD

Organización para la cooperación y el desarrollo económico	102
--	-----

OR

Odds Ratios	168
-------------------	-----

P

PARP

poli ADP ribosa polimerasa	64
----------------------------------	----

PCR

Reacción en Cadena de la Polimerasa	76
---	----

PRS

Score de Riesgo Poligénico	51
----------------------------------	----

R

RE

Receptor de Estrógeno	185
-----------------------------	-----

RM

Resonancia Magnética	65
----------------------------	----

RP

Receptor de Progesterona	185
--------------------------------	-----

RR

Riesgo Relativo	32
-----------------------	----

S

SCMOH

Síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario.....	33
--	----

SD

Desviación estándar.....	29
--------------------------	----

SEOM

Sociedad Española de Oncología Médica	38
---	----

SNP

Polimorfismo	72
Polimorfismos.....	72

U

UCF

Unidad Hospitalaria de Referencia o Unidad de Cáncer Familiar	43
---	----

UNESCO

Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura	35
--	----

V

VP

Variantes patogénicas	221
VPP	
Variantes probablemente patogénicas.....	227
VSD	
Variantes de Significado Desconocido	58

RESUMEN

Estudio epidemiológico descriptivo y aspectos ético-legales del programa de detección y asesoramiento genético de la Comunidad de Madrid en la consulta de cáncer familiar de mama y ovario

Introducción

El programa de detección y asesoramiento genético en cáncer familiar de la Comunidad de Madrid se elaboró en 2005 con el objeto de definir los criterios mínimos sobre actuaciones frente a las distintas modalidades tumorales y su manejo clínico. Además, persigue asegurar una detección precoz analizando la predisposición genética, tomando así medidas en una etapa temprana de la enfermedad donde se ha demostrado que se incrementa notablemente la supervivencia de los pacientes.

Con este trabajo pretendemos la mejora del proceso de asesoramiento genético, actualizando dicho programa con recomendaciones dirigidas a una actividad más personalizada, y que surgen de abordar los retos, tanto de índole ética como legal, aparecidos tras la llegada de la secuenciación masiva.

Hipótesis y Objetivos

El estudio de variantes genéticas en *BRCA1* y *BRCA2* y la presencia de determinados polimorfismos en pacientes de alto riesgo clínico y resultado negativo para variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2*, permiten reclasificar el riesgo individual de la paciente y modificar las estrategias de prevención familiar, así como aparecen nuevos riesgos desde el punto de vista ético legal.

Objetivos principales: identificar la presencia de variantes genéticas en genes *BRCA1* y *BRCA2* en un grupo de pacientes de la Comunidad de Madrid de alto riesgo clínico y afectas de cáncer de mama, así como determinar los problemas éticos

y legales que plantea la información de los resultados obtenidos por secuenciación masiva.

De manera secundaria, se pretende estudiar las características epidemiológicas de la población de estudio, el análisis y clasificación de variantes en *BRCA1*, *BRCA2* y *BRCAX*, la búsqueda de asociaciones entre las variables descriptivas y las variantes causales detectadas, y valorar la influencia de los polimorfismos en el cálculo del riesgo.

Material y métodos

Esta tesis doctoral se divide en tres estudios:

1. Estudio de revisión bibliográfica, para conocer la actualidad de los aspectos éticos y legales del proceso de asesoramiento genético.
2. Estudio observacional descriptivo de carácter prospectivo y transversal, donde se recogen variables epidemiológicas descriptivas de interés de 1059 pacientes remitidos a la consulta de cáncer familiar del Hospital Universitario de la Princesa por sospecha de cáncer de mama y ovario hereditario desde 2006-2017 en la Comunidad de Madrid.
3. Estudio experimental, con una muestra de 47 pacientes divididos en dos grupos según edad de diagnóstico, todas ellas casos índices con criterios clínicos de alto riesgo y afectas, que han resultado negativos para variantes causales en *BRCA1* y *BRCA2* con objeto de buscar un diagnóstico genético en otros genes *BRCAX*.

Para ello se seleccionó un panel de 94 genes y 287 polimorfismos y se analizaron las muestras por secuenciación masiva. Posteriormente al análisis bioinformático se realizó la clasificación e interpretación de variantes, así como los pertinentes informes de laboratorio.

Se seleccionaron 30 polimorfismos de riesgo para cáncer de mama de nuestro panel y se estudió su presencia en la muestra experimental calculando un score de riesgo poligénico. Retrospectivamente, se estimó la influencia de dicho score en la estimación del riesgo a lo largo de la vida mediante el modelo IBIS Breast Cancer Risk Evaluation Tool (vs8.0).

Resultados y Discusión:

La población de 1059 pacientes atendida desde la Unidad de Cáncer Familiar era equilibrada en casos índices y familiares. Se destaca la presencia de más familiares del sexo masculino que acudieron a realizar el estudio genético de la variante familiar patogénica. Las características del tumor más frecuentes fueron unilateral, ductal, y luminal A.

El 18% de casos índices y familiares se les detectó variante genética patogénica o probablemente patogénica en *BRCA1* y *BRCA2*. A un 70% de pacientes con riesgo alto no se les detectó variante genética patogénica en estos genes. El porcentaje de variantes de significado desconocido detectadas fue de un 11,3%, reduciéndose un 9,5% tras reclasificarlas.

Se ha constatado la presencia de variantes patogénicas, o probablemente patogénicas, en genes *BRCAX* en el 12,8% de las pacientes del estudio experimental, pudiendo relacionar de manera evidente a la mitad de ellas con el fenotipo tumoral de estudio.

Adicionalmente, se ha detectado un alto porcentaje de variantes de significado desconocido 34%.

Se ha confirmado la mejora en la estimación del riesgo a lo largo de la vida con el efecto adicional del score que incrementó la estimación en prácticamente la

totalidad de las pacientes. Por otro lado, el 63,8% de las pacientes obtuvieron un riesgo de cáncer por encima del 50%.

La interpretación clínica de los resultados conlleva la modificación de las estrategias de manejo de pacientes y familiares que han obtenido un diagnóstico genético en genes *BRCA1* y *BRCA2* que se relacionan de manera evidente con la enfermedad de estudio. Con ello hemos discutido los principales aspectos éticos y legales derivados de la utilización de la secuenciación masiva, de la falta de oportunidad diagnóstica en la asistencia clínica ante la dificultad de estudios de estos otros genes, respecto a la comunicación de hallazgos incidentales y el papel del consentimiento informado o la comunicación de resultados en genes de moderada penetrancia y baja prevalencia sobre los que hay poca evidencia científica.

Conclusiones

El estudio de panel de genes de cáncer hereditario en pacientes diagnosticadas de cáncer de mama que pertenecen a familias de alto riesgo en las que no se había detectado variantes genéticas patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2*, permite un diagnóstico genético evidente en el 6,8% y ofrece la posibilidad de estudio a los familiares a riesgo modificando las recomendaciones de seguimiento, tratamiento o actuaciones de reducción del riesgo. Se recomienda informar por escrito todas las variables de significado desconocido, para no perder oportunidades diagnósticas posteriores.

La falta de normalización de la especialidad de genética y de formación de profesionales genetistas tiene un alto impacto en la seguridad de los pacientes y familiares. La acreditación de los laboratorios de biología molecular reduciría los riesgos de mayor impacto. El Consentimiento Informado juega un papel

fundamental desde el punto de vista ético legal, y las nuevas tecnologías obligan a modificarlo para que el paciente decida si desea conocer hallazgos incidentales que no conllevan actuación clínica.

SUMMARY

Descriptive epidemiological study and ethical-legal aspects of the genetic detection and counseling program of the Community of Madrid in the family breast and ovarian cancer consultation

Introduction

The detection and genetic counseling program in family cancer of the Community of Madrid was developed in 2005 in order to define the minimum criteria for actions against the different tumor phenotypes and their clinical management. In addition, it seeks to ensure early detection by analyzing the genetic predisposition, thus taking measures at an early stage of the disease where it has been shown that patients' survival is markedly increased.

With this work we intend to improve the genetic counseling process, updating the program with recommendations aimed at a more personalized activity, and that arise from addressing the challenges, both ethical and legal, that appeared after the arrival of new generation sequencing.

Hypothesis and Objectives

The study of genetic variants in *BRCA1* and *BRCA2* and the presence of polymorphisms in patients with high clinical risk and negative result for pathogenic variants in *BRCA1 and 2*, allow reclassifying the patient's individual risk and modifying family prevention strategies as well as new risks from the legal ethical point of view.

Principal objectives: identify the presence of genetic variants in *BRCAX* genes in a group of patients of the Community of Madrid with high clinical risk and breast cancer problems, as well as determine the ethical and legal problems involved in the information on the results obtained by new generation sequencing.

Additionally, we study epidemiological characteristics of the target population, the analysis and classification of variants in *BRCA1*, *BRCA2* and *BRCAX*, the search for associations between the descriptive variables and the causal variants detected, and the influence of polymorphisms in the calculation of risk.

Material and methods

This doctoral thesis is divided into three studies:

1. Literature review study, to know the current ethical and legal aspects of the genetic counseling process.
2. A descriptive, prospective and cross-sectional observational study, which includes descriptive epidemiological variables of interest of 1059 patients referred to the family cancer clinic of the Princesa University Hospital for suspected hereditary breast and ovarian cancer from 2006-2017 in the Community of Madrid.
3. Experimental study, with a sample of 47 patients divided into two groups according to age of diagnosis, all of them index cases with high risk clinical criteria and conditions, which have been negative for causal variants in *BRCA1* / 2 in order to look for a genetic diagnosis in other *BRCAX* genes.

For this, a panel of 94 genes and 287 polymorphisms was selected and the samples were analyzed by massive sequencing. After the bioinformatic analysis,

the classification and interpretation of variants was carried out, as well as the pertinent laboratory reports.

Thirty risk polymorphisms for breast cancer were selected from our panel and their presence in the experimental sample was studied by calculating a polygenic risk score. Retrospectively, the influence of this score on the estimation of risk throughout life was estimated using the IBIS Breast Cancer Risk Evaluation Tool (vs. 8.0).

Results and Discussion

The population of 1059 patients attended by the Family Cancer Unit was balanced in index and family cases. The presence of more male relatives who came to carry out the genetic study of the pathogenic family variant stands out.

The most frequent tumor characteristics were unilateral, ductal, and luminal A.

In 18% of index and familial cases a pathogenic or probably pathogenic genetic variant was detected in *BRCA1* and *BRCA2*. In 70% of high-risk patients, no pathogenic genetic variant was detected in these genes. The percentage of unknown significance variants detected was 11.3%, reducing 9.5% after reclassification based on current knowledge.

The presence of pathogenic, or probably pathogenic, variants in *BRCAX* genes has been found in 12.8% of the patients in the experimental study, and half of them can be clearly related to the study tumor phenotype.

Additionally, a high percentage of unknown significance variants has been detected (34%).

The improvement in the estimation of risk throughout life has been confirmed with the additional effect of the score, which increased the estimation in practically all

the patients. On the other hand, 63.8% of the patients obtained a risk of cancer above 50%.

The clinical interpretation of the results imply the modification of patient and family management strategies that have obtained a genetic diagnosis in *BRCAX* genes that are clearly related to the disease being studied. With this we have discussed the main ethical and legal aspects derived from the use of new generation sequencing, the lack of diagnostic opportunity in clinical care due to the impossibility of studies of these other genes, regarding the communication of incidental findings and the role of informed consent or communication of results in genes of moderate penetrance and low prevalence which have little scientific evidence.

Conclusions

The study of *BRCAX* genes in patients diagnosed with breast cancer who belong to families at high risk of developing breast cancer and a negative result for *BRCA1 and 2* allows an evident genetic diagnosis in 6.8% and offers the possibility of study to patients relatives at risk modifying the recommendations for follow-up, treatment or risk reduction actions. It is recommended to report all variables of unknown significance in writing, so as not to miss subsequent diagnostic opportunities.

The lack of standardization of the specialty of genetics and the training of professional geneticists has a high impact on the safety of patients and their families. Accreditation of molecular biology laboratories would reduce the highest impact risks. Informed consent plays a fundamental role from the legal ethical point of view, and new technologies force it to be modified so that the patient can decide if they want to know incidental findings that do not entail clinical action.

I. INTRODUCCIÓN

El asesoramiento genético (AG) es el proceso de comunicación que trata con los problemas humanos asociados con la aparición, o riesgo de aparición, de desórdenes genéticos en una familia. Se transmite a los pacientes la información médica y genética relevante para su condición de forma que sean entendibles y puedan elegir el modo de acción más apropiado para ellos. El AG no siempre implica la realización de la prueba genética.

Debemos destacar que, incluso en los síndromes mejor estudiados, no siempre podemos detectar la alteración causal pese a conocer bien los genes implicados

(1). Los motivos pueden ser varios:

- Problemas asociados a la técnica molecular empleada.
- Selección inadecuada del probando.
- Fenocopias debidas a variantes esporádicas.
- Implicación de otros genes desconocidos por el momento.
- Falta de conocimiento actual sobre la causalidad de una variante en la comunidad científica.

Dadas las características particulares de la información genética y su capacidad de repercusión tan profunda en la vida tanto de pacientes como familiares, se deben tener muy en cuenta los aspectos éticos relacionados con el AG, la repercusión psicosocial en el paciente y la necesidad de un soporte adecuado durante todo el proceso del estudio genético. Asimismo, sus distintas implicaciones de distinta índole (ya sean de tipo ético, social, político o económico) requieren un marco regulatorio específico que repasamos en este trabajo de investigación.

1.1.EPIDEMIOLOGÍA DEL CÁNCER DE MAMA

Según las estadísticas de Globocan 2018 publicadas por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), a nivel mundial el cáncer de mama es el cáncer más prevalente a 5 años en ambos sexos con un registro de 6.875.099 casos (15,7%). En incidencia, es el segundo con más casos nuevos registrados después del cáncer de pulmón, en 2018 fueron 2.088.849 casos (11,6%). Los datos en España son similares es el cáncer más prevalente a 5 años en ambos sexos, en 2018 se ha estimado en 129.928 casos (16,8%) y en incidencia es el segundo después del colorectal estimándose en 32.825 casos nuevos en 2018 (12,1%) (2).

Respecto a la tasa de mortalidad, el cáncer de mama es el quinto cáncer con mayor tasa de mortalidad (6,6%) a nivel mundial. En España es el cuarto con una tasa de mortalidad del 5,7%. En la Comunidad de Madrid en 2017 hubo 840 defunciones por cada 100.000 habitantes debidas a Cáncer de mama en ambos sexos, según los datos del Instituto Nacional de Estadística (INE) (3).

En la memoria del año 2017 del registro de tumores de la Comunidad de Madrid se indica un incremento del 6,1% en el número de tumores registrados en la comunidad. La incidencia de cáncer fue similar a la indicada a nivel nacional y europeo. La edad media de diagnóstico se estimó en 66,1 años (desviación estándar (SD) 14,9) y los tumores de mama son los segundos más frecuentes después de los del aparato digestivo. Por sexo en varones se registraron un 0,2% de casos de Cáncer de mama y en las mujeres el Cáncer de mama fue el más frecuente (29,6%) siendo la histología el método diagnóstico más frecuente (90%) seguido de muy lejos de métodos citológicos, citogenética, citometría y biología molecular (5,2%). Respecto a las características de los cánceres

predominaron en frecuencia los localizados y unilaterales. El tratamiento más frecuente fue quirúrgico.

El Hospital Universitario de la Princesa (HULPR), que tiene una población asignada de 327.557 personas, fue el octavo hospital con mayor número de casos de cáncer registrados en 2017 (1400). En las pacientes atendidas en el hospital, el cáncer de mama fue el tercero más frecuente después de el de colon y pulmón según datos de 2012 (4).

Se han descrito múltiples factores de riesgo (5) para el Cáncer de mama entre ellos:

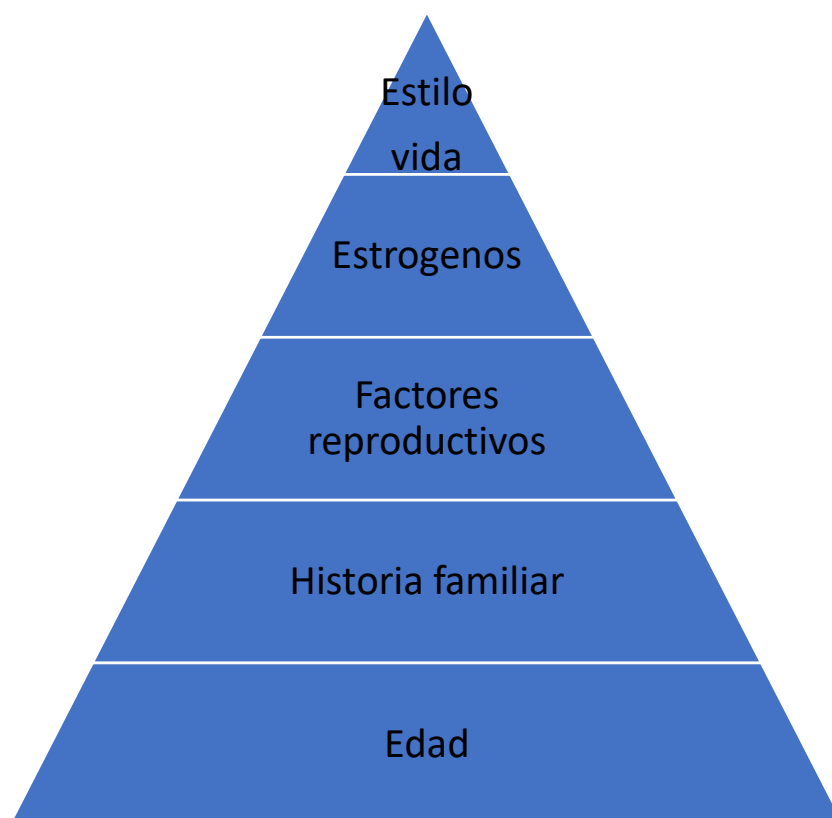


Ilustración 1. Diagrama esquemático de factores de riesgo para cáncer de mama. Adaptado de Sun YS et al.

Varias publicaciones han demostrado que son factores de riesgo para Cáncer de mama los embarazos, la lactancia materna (6), la edad de menarquia y menopausia (7), el uso de anticonceptivos orales (8) entre otros varios factores.

También se ha observado cierta agregación familiar del cáncer de mama en comparación con la población general. Casi una cuarta parte de todos los casos de cáncer de mama están relacionados con antecedentes familiares. Un estudio de cohorte de más de 113,000 mujeres en el Reino Unido demostró que las mujeres con un pariente de primer grado con Cáncer de mama tienen un riesgo 1.75 veces mayor de desarrollar esta enfermedad que las mujeres sin parientes afectados. Además, el riesgo se vuelve 2.5 veces más alto en mujeres con dos o más parientes de primer grado con Cáncer de mama (9).

El estudio ALAMO III en población española estimó que al menos 3 de cada 10 pacientes con Cáncer de mama tienen al menos una característica de riesgo de cáncer hereditario (10). La susceptibilidad hereditaria al cáncer de mama se atribuye parcialmente (7-20%) a las mutaciones de genes relacionados como *BRCA1* y *BRCA2* (5). El cáncer de mama familiar comprende del 20 al 30% de todos los cánceres de mama (11). Menos del 10% de los cánceres de mama se atribuyen a variante patogénica heredada (12).

1.2. GENÉTICA DEL CÁNCER DE MAMA FAMILIAR Y EL SOLAPAMIENTO ENTRE LOS SÍNDROMES DE CÁNCER HEREDITARIO

Muchos estudios moleculares han demostrado la complejidad en la base genética de la susceptibilidad al desarrollo del Cáncer de mama que viene dada por variaciones en línea germinal de diferentes loci. Tras la finalización del proyecto Genoma Humano y los estudios de asociación de todo el genoma ha sido posible identificar múltiples loci asociados con Cáncer de mama. Se conoce que algunos de ellos se relacionan también con otros fenotipos de cáncer. Estas

alteraciones en determinados loci asociados a Cáncer de mama son de diversos niveles de riesgo y frecuencia alélica.

Gran parte de los avances en el conocimiento científico se han enfocado hacia el diagnóstico precoz que reduce considerablemente la tasa de mortalidad. La individualización del riesgo es la clave para la medicina personalizada y la selección adecuada de candidatos para las estrategias terapéuticas preventivas de reducción de riesgo (13).

Las alteraciones en genes relacionados con la reparación de DNA son generalmente las asociadas a loci de susceptibilidad al cáncer de mama de alta penetrancia. Las variantes en genes de alta penetrancia son aquellas que incrementan en más del 30% el riesgo a lo largo de la vida para el desarrollo de cáncer de mama y desde un punto de vista clínico por encima del 50% son candidatos a la intervención quirúrgica profiláctica (14).

Los genes de moderada penetrancia son aquellos que incrementan en más de un 20% el riesgo de por vida y los de baja penetrancia incrementan el riesgo de por vida de un 10 a máximo un 20%. Otra forma de expresar el riesgo de por vida es mediante el Riesgo Relativo (RR), se sabe que un RR de 2 equivale a un riesgo de por vida del 18%.

Para describir la arquitectura genética es común utilizar una representación bidimensional entre la frecuencia alélica y el RR. Ghousaini et al. (15) describen la arquitectura genética del cáncer de mama en la siguiente ilustración.

Afortunadamente las variantes en genes de alto riesgo corresponden a variantes de muy baja frecuencia alélica y viceversa.

Arquitectura genética del cáncer de mama

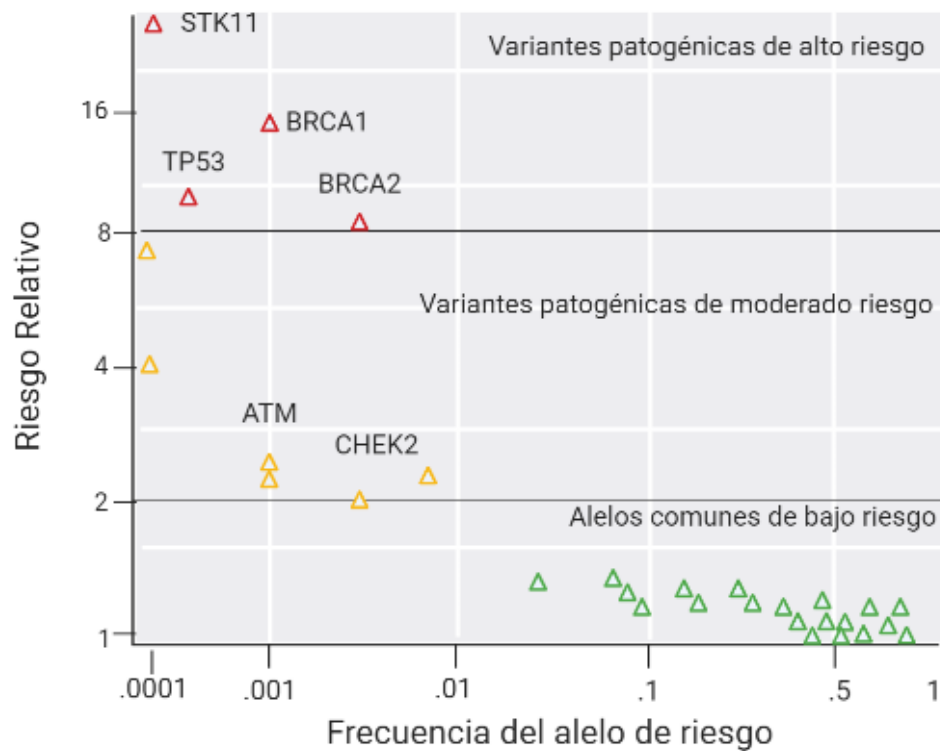


Ilustración 2. Arquitectura genética del cáncer de mama. Adaptado de Ghoussaini et al.

Los síndromes de cáncer hereditario tienen distintos perfiles de cáncer. Sin embargo, el solapamiento de tumores entre estos síndromes dificulta la identificación del gen más apropiado a estudiar para cada paciente. Debido a la alta prevalencia y penetrancia de sus alteraciones, los genes *BRCA1* y *BRCA2* se consideran los principales factores genéticos del síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario (SCMOH) y su estudio se ha incorporado mediante el AG a la práctica clínica. Sin embargo estos genes de alta penetrancia explican menos del 10% de todos los casos de cáncer de mama (11) y el 15% de los casos que acuden a las consultas de cáncer familiar, quedando aún un amplio porcentaje por explicar la etiología (ver ilustración 3 (16)).

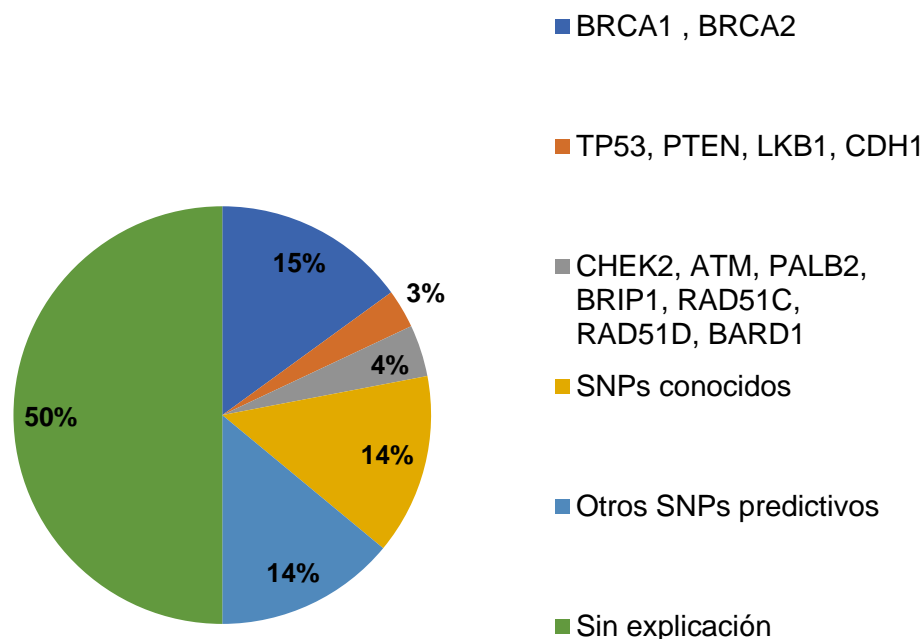


Ilustración 3. Contribución de las variantes genéticas en genes de distinta penetrancia al desarrollo del cáncer de mama. Adaptada de Couch et al.

Se ha demostrado la existencia de variantes patogénicas en genes de moderada penetrancia para el cáncer de mama y ovario que no son objeto de estudio habitual (17)(18) y que pueden modificar las recomendaciones clínicas.

Por otro lado, las recomendaciones de pruebas de cáncer hereditarias se basan en la premisa de que los síndromes comunes de cáncer hereditario tienen fenotipos distintos y reconocibles. Sin embargo, como ya se ha comentado anteriormente muchos síndromes se presentan con cánceres superpuestos. Se ha demostrado que una proporción de pacientes cumplían con criterios clínicos para el síndrome de Lynch a la vez que para el SCMOH. (19) (20). Saam J et al. detectaron un 7% de pacientes testadas para SCMOH que cumplían con criterios clínicos de la NCCN (National Comprehensive Cancer Network) para ambos síndromes. Por otro lado, el porcentaje de

pacientes testadas para síndrome de Lynch que cumplían con criterios de SCMOH era aún mayor 29,5% (21). Ello complica el diagnóstico y la selección de la prueba genética. En estos casos, los paneles multigénicos serían una optimización de recursos y de tiempo siempre y cuando haya accesibilidad desde un punto de vista económico y de soporte.

Sin embargo, también la agregación familiar se ha atribuido a la combinación de determinadas variantes genéticas en genes de baja penetrancia sumado al efecto de factores ambientales compartidos en la familia (22). La acumulación del efecto de polimorfismos relacionados con el cáncer de mama la explicaremos más adelante en el punto 1.5.5.

1.3. INFORMACIÓN GENÉTICA Y ASESORAMIENTO

La información genética se refiere a la información relativa a los genes, productos génicos o características heredadas generada a través de pruebas genéticas o un cuidadoso análisis de la historia familiar. Así la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO) (23)(24) los define los datos genéticos humanos como la *“información sobre las características hereditarias de las personas, obtenida por análisis de ácidos nucleicos u otros análisis científicos”*.

La información genética presenta ciertas características inherentes que la distinguen de otras informaciones sanitarias. Para empezar, es única y característica de cada individuo, de manera que lo distingue de los demás. Por otro lado, se transmite verticalmente y puede proporcionar información familiar, de manera que vincula al paciente con el resto de su familia. Además, la UNESCO reconoce en su Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos que *“el genoma humano es la base de la unidad*

fundamental de todos los miembros de la familia humana y del reconocimiento de su dignidad intrínseca y su diversidad. En sentido simbólico, el genoma humano es el patrimonio de la humanidad" (25). De esta manera, podemos apreciar una importante característica de la información genética que la distingue de cualquier otro tipo de información sanitaria. Esto es su naturaleza tridimensional: individual, familiar y universal.

La información genética se aprecia como particularmente poderosa por la sociedad. En gran parte puede ser debido a su característica de inmutabilidad e inalterabilidad (al menos, actualmente en la práctica clínica habitual), junto con el hecho de ser involuntaria, ya que ha sido impuesta por el mero hecho de existir. También contribuye el hecho de una concepción de determinismo genético en el que un estudio genético va a predecir nuestro destino, salud, comportamiento y características físicas. Es cierto que la información genética tiene gran parte de su valor en su capacidad predictiva de susceptibilidad a desarrollar determinadas enfermedades, así como de respuesta al tratamiento. Sin embargo, está ampliamente estudiado que no existe una relación lineal entre un determinado gen y el fenotipo (excepto en enfermedades monogénicas bien estudiadas), sino que éste va a verse afectado por una red compleja de interacciones entre distintos genes y el ambiente.

Además, aunque no específico de la información genética, se pueden observar las siguientes características: se puede obtener de muestras pequeñas (con facilidad sin consentimiento); se puede emplear para otros fines distintos de los previstos; es de interés para terceras partes, como empresas y aseguradoras; y se puede recuperar de muestras almacenadas tras largos periodos.

Que dicha información sea capaz de suponer la toma de decisiones de actuación clínica irreversible sin duda nos hacen entender la peculiaridad de dicha información y la necesidad de ser tratada de manera separada del resto de información sanitaria, así como ser especialmente protegida.

Es por ello que respecto a dicha información es fundamental el papel del asesor genético y el proceso de asesoramiento.

El AG en cáncer hereditario es *“un proceso que ayuda a entender la contribución genética en la aparición de cáncer, y que facilita la adaptación a las implicaciones médicas, psicológicas y familiares que conlleva esta predisposición genética”* (22).

El AG ideal debería constar de las siguientes características:

- Ser realizado por un profesional adecuadamente entrenado que entiende tanto la genética como sus implicaciones éticas; proporcionar información relevante y objetiva, y ser capaz de transmitirla de forma que sea comprensible para el paciente.
- Proporcionar soporte psicológico o facilitar su acceso.
- Emplear el CI de manera que es entendido y firmado por el paciente.
- Asegurar la confidencialidad de la información genética
- Tener presente las implicaciones familiares
- Asegurar un manejo adecuado de una potencial discriminación derivada del estudio
- Asegurar un proceso de toma de decisiones autónomo por parte del paciente.

Con el rápido paso de los genes del ámbito de investigación al ámbito clínico, el asesoramiento se ha actualizado y adaptado a los nuevos descubrimientos

respecto al riesgo asociado a determinados genes. Para variantes patogénicas en genes de alta penetrancia hay suficiente evidencia para ofrecer recomendaciones de actuación clínica, sin embargo, más controvertidas son las pautas que dar sobre dichas variantes en genes de moderada penetrancia de las que no se dispone de tanta base científica.

A falta de un reconocimiento legal de la especialidad de genética y del proceso de formación en dicha especialidad son las sociedades científicas, respaldadas por la experiencia laboral de profesionales que se dedican a genética, las que realizan publicaciones con motivo de estandarizar las actuaciones.

Por otro lado, la gestión clínica y las recomendaciones por los asesores de los resultados de las pruebas genéticas son muy dispares internacionalmente pues el ámbito de las sociedades científicas a menudo es más nacional que internacional. El estudio “*Evidence-based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles*” (ENIGMA) demostró dicha disparidad en concreto sobre los resultados de variantes en genes *BRCA1/2* (26).

También resultan controvertidas las diferencias en las pautas de manejo de los pacientes que portan variantes patogénicas en genes de moderada penetrancia(27).

La Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) en 2019 (28) publicó recomendaciones que implican actuación clínica ante los resultados de la información genética como:

- Mamografía anual o resonancia magnética a partir de los 30 años hasta los 75 o 70 respectivamente para portadores de variantes patogénicas en *BRCA1/2*.

- Salpingooferectomía bilateral a mujeres con una variante patogénica en *BRCA1* entre 35 y 40 años y entre 40 y 45 años para mujeres con variante patogénica en *BRCA2* y después de la finalización de la maternidad.
- La mastectomía bilateral para reducir el riesgo es una opción para portadores sanos de variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2*, así como la mastectomía contralateral para pacientes jóvenes con un diagnóstico previo de cáncer de mama.

Pocas y poco homogéneas son las recomendaciones publicadas para variantes patogénicas en genes de moderada penetrancia. Entre ellas destacan (28):

- ✓ Para variantes patogénicas en ATM, NBN o CHEK2 (deletéreas en heterocigosis): mamografía anual a partir de los 40 años (un inicio más temprano a la edad de 35 años podría justificarse en presencia de antecedentes familiares claros de Cáncer de mama especialmente cuando se trata de familiares de primer grado con Cáncer de mama a edades tempranas), examen clínico de las mamas y/o resonancia magnética.

Para ATM:

- ✓ Salpingooferectomía profiláctica según la historia familiar de cáncer de ovario.
- ✓ Considere ofrecer vigilancia del cáncer de páncreas y resonancia magnética en portadores con un familiar de primer grado con cáncer de páncreas desde los 50 años.

Para CHEK2:

- ✓ La colonoscopia se recomienda en los casos en los que la historia familiar es de cáncer colorectal o pólipos adenomatosos, a partir de los 40 años, y repetir cada 5 años.
- ✓ Para variantes patogénicas en *PALB2*: mamografía anual a partir de los 35, examen clínico de las mamas y/o resonancia magnética con contraste a partir de los 25 años. Salpingooferectomía profiláctica según la historia familiar de cáncer de ovario. La colonoscopia se recomienda en los casos en los que la historia familiar es de cáncer colorectal o pólipos adenomatosos. Discutir la vigilancia del cáncer de páncreas y resonancia en portadores con un familiar de primer grado con cáncer de páncreas desde los 50 años.
- ✓ Para variantes patogénicas en *BRIP1*, *RAD51C*, *RAD51D*: Mamografía o resonancia anual y examen clínico de las mamas según historia familiar. La resonancia magnética se considera si el riesgo acumulado a lo largo de la vida (80 años) es mayor del 20-25% iniciándolo cuando el riesgo a 5 años supera el 2-2,5%. La salpingooferectomía se recomienda entre los 45 y 50 años. Podría considerarse a menos edad si el paciente tiene antecedentes familiares claros de cáncer de ovario (más de 1 caso) especialmente tratándose de parientes cercanos.

Las implicaciones clínicas asociadas a variantes detectadas en genes de moderada penetrancia por tanto es una realidad, aunque poco homogénea, y

constituye uno de los retos a los que los especialistas en genética se enfrentan en la actualidad.

Los programas de detección y asesoramiento de las comunidades científicas a menudo han quedado obsoletos y desactualizados a los avances tecnológicos y a los cambios en el abordaje del estudio del cáncer familiar. Con frecuencia este proceso es diferente entre Comunidades Autónomas, así como entre hospitales.

1.4. PROGRAMA DE DETECCIÓN Y ASESORAMIENTO DE CÁNCER FAMILIAR EN LA COMUNIDAD DE MADRID

El actual programa de detección y AG de cáncer familiar en la Comunidad de Madrid se inicia en el año 2005. El objeto que persigue este documento es definir criterios mínimos sobre actitudes frente a las distintas modalidades tumorales y terapéuticas. Por otro lado persigue asegurar una detección precoz analizando la predisposición genética de manera que se pueda realizar un seguimiento que permita la detección temprana del cáncer, momento en el cual se incrementa notablemente la supervivencia de las pacientes(29).

Los avances en el campo de la genética y la biología molecular obligan a hacer cambios en la organización y en la provisión de servicios sanitarios. Este documento se hizo después de un primer esfuerzo realizado en 2001 de la Comunidad junto al Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) para la elaboración de un programa piloto de cáncer hereditario para organizar e integrar en el sistema de salud público los procesos de la actividad de atención integral en cáncer familiar.

El programa es fruto del consenso de profesionales de los hospitales públicos, del CNIO y coordinados por la Oficina Regional de Coordinación Oncológica

de la Comunidad de Madrid. Los profesionales dedicados a la atención de los pacientes con cáncer y al estudio de esta patología. Como clave de la discusión legal y ética que se elaborará en esta tesis doctoral se recuerda que aún hoy en día se carece de reconocimiento en España de la especialidad de Genética Clínica con entidad propia y de un programa formativo para dicha especialidad. Por lo que a estos profesionales les acredita exclusivamente su experiencia profesional o mediante cursos de postgrado o masters, acreditación de la Sociedad Española de Oncología Médica o de Genética Humana (30) o en menos casos la obtención de la especialidad fuera de nuestro país donde si esté reconocida como tal.

Por otro lado, no se ha publicado oficialmente ninguna actualización del programa hoy en día. En otros países como Francia cuyo programa de detección versa del año 2004 han realizado algunas publicaciones (31) donde recalcan la necesidad de actualización a los conocimientos actuales.

La organización del proceso clínico de detección y asesoramiento se describe como la interrelación de 3 subprocesos ofrecidos a los pacientes de manera equitativa:

1. Cribado: cuyo objetivo es identificar a las personas con riesgo. Desde A.P y A. E se derivarán dichos pacientes que serán evaluados por el coordinador hospitalario.
2. Diagnóstico: se realizará en las unidades de cáncer familiar en este subproceso se valora el riesgo se evalúa la necesidad de atención psicooncológica, selección del caso índice en la familia, ofrecimiento del estudio genético si procede (la recomendación es ofrecerlo cuando los resultados del mismo ayuden en el diagnóstico o influyan en el manejo

médico o quirúrgico del individuo o de sus familiares a riesgo), CI, petición y extracción de muestra y registro de la información así como el análisis y diagnóstico del riesgo que conlleva la realización del estudio genético y que en dicho programa se identificó inicialmente al CNIO por su experiencia y calidad en el análisis genético.

3. Terapéutica y seguimiento: el informe genético es remitido a la Unidad de cáncer familiar y se realizará un plan terapéutico y de seguimiento personalizado. Ver ilustración 4. (*Adaptado de Programa de detección y asesoramiento cáncer familiar Comunidad de Madrid (29)*)

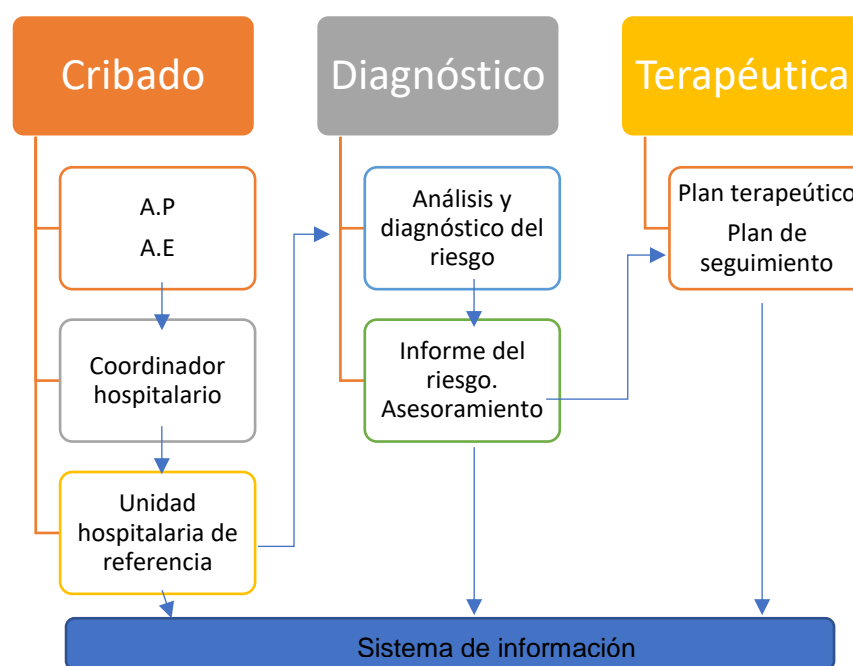


Ilustración 4. Procesos clínicos del programa de detección y asesoramiento cáncer familiar de la Comunidad de Madrid.

Se crea la figura de un Coordinador Hospitalario que revise las derivaciones a la Unidad Hospitalaria de Referencia o Unidad de Cáncer Familiar (UCF) desde la que se realizará por profesionales que sean formados para dicha actuación

y diagnóstico del riesgo así como el informe del riesgo y el asesoramiento pertinente en el que se darán determinadas recomendaciones se procederá a la fase terapéutica y de seguimiento.

En dichas Unidades de Cáncer Familiar se realizarán Planes Terapéuticos Personalizados y seguimiento de las personas con riesgo de sufrir incidencia de cáncer hereditario.

1.4.1. Estructura de las unidades de cáncer familiar

El AG realizado en las unidades de cáncer familiar es donde se evalúa los riesgos individuales y familiares de cáncer, se explican las bases genéticas de la predisposición, se realiza si proceden estudios genéticos (asesorando sobre la estrategia de diagnóstico molecular), interpreta los resultados y aconseja a los pacientes sobre las estrategias de prevención y reducción de riesgos de manera individualizada. Actualmente, muchas redes de unidades de AG sobre el cáncer hereditario se encuentran integradas en distintos servicios de la mayoría de los hospitales españoles, que se componen de equipos multidisciplinares y ofrecen atención de alta calidad para el tratamiento del cáncer hereditario. Es muy importante para el correcto funcionamiento que estas unidades se comuniquen con el resto de los especialistas involucrados en los procesos, tanto de estrategias de prevención y reducción del riesgo como con los especialistas de laboratorio y los especialistas en psicología si fuera necesario. Desde la SEOM se ha publicado un mapa online donde se refleja la ubicación de dichas unidades de cáncer familiar (32).

La SEOM (30) realizó un estudio en el que se describe la organización y funcionamiento de estas Unidades realizando:

- Descripción de los roles específicos:
 - o Especialista genetista clínico con formación suficiente en cáncer hereditario y actualización de conocimientos.
- Descripción de los procesos clínicos llevados a cabo en dichas unidades (ver ilustración 5):
 - o Elaboración de un árbol genealógico en el que al menos se incluyan tres generaciones que sea lo más preciso posible y siempre que se pueda revisar los informes médicos del diagnóstico de cáncer.
 - o Evaluación del riesgo individual y familiar según criterios clínicos y a veces por herramientas computacionales (explicaremos a continuación las más utilizadas).
 - o Suministro de información y asesoramiento individual y familiar sobre opciones para reducir el riesgo. En caso de que proceda ofrecer la realización de la prueba genética. Proporcionar un CI personalizado en el que se incluya un resumen del asesoramiento.
 - o Registro y mantenimiento de la información clínica relevante y de los datos genéticos asegurando su preservación y confidencialidad de acuerdo con la legislación vigente (ley de investigación biomédica).
 - o Elaboración de un informe médico con recomendaciones individualizadas para la reducción de riesgo y la interpretación de pruebas diagnósticas genéticas.

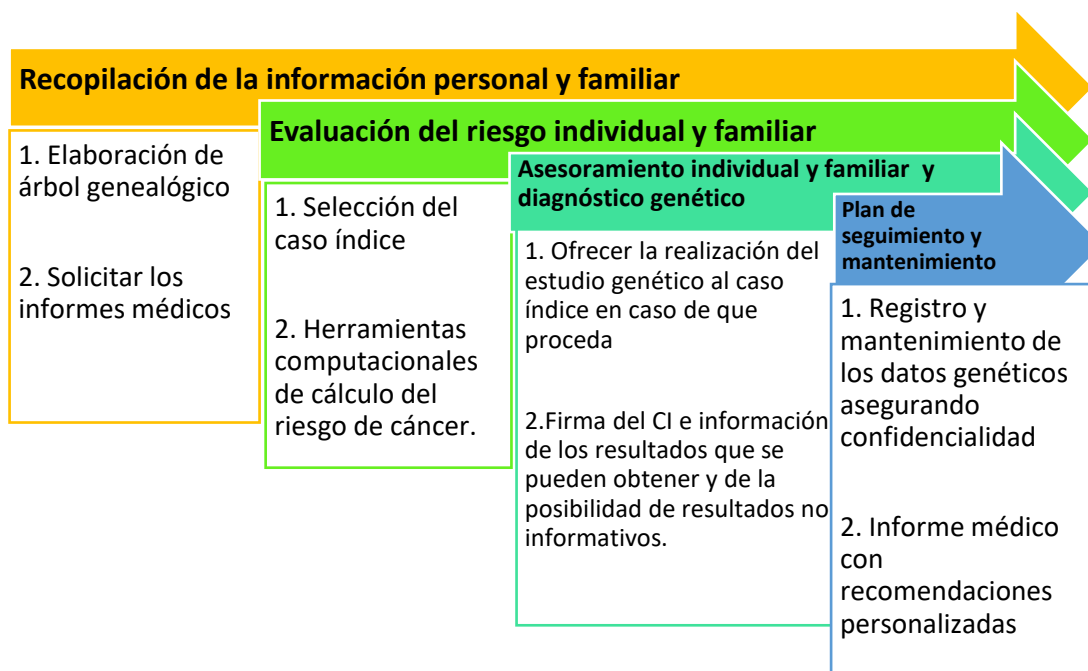


Ilustración 5. Procesos en las Unidades de Cáncer Familiar

- Servicios básicos proporcionados por los laboratorios de biología molecular: deben asegurar la calidad en los procesos del estudio molecular para la realización de la prueba genética.
- Recursos humanos y materiales necesarios para la organización de la unidad de cáncer familiar.

1.4.2. Análisis del riesgo según criterios clínicos

En este programa se definen los criterios generales de cáncer familiar y/o hereditario, así como los criterios clínicos de alto riesgo para los distintos fenotipos de cáncer familiar entre los que están los de cáncer de mama y ovario. Se consideran individuos de alto riesgo aquellos que poseen una probabilidad mayor de un 10% de tener una variante patogénica germinal y por tanto son candidatos a AG, realizar el estudio genético y seguimiento. En la siguiente tabla se describen los criterios clínicos de alto riesgo descritos en el programa para cáncer de mama y ovario familiar inicial.

Tabla 1. Criterios clínicos de riesgo Comunidad Autónoma de Madrid (CAM) 2005.

Criterios clínicos de riesgo de cáncer familiar de mama y ovario de la CAM 2005	
Alto riesgo	1 caso cáncer de mama en edad ≤ 40 años. Cáncer de mama y cáncer de ovario en la misma paciente, a cualquier edad.
	≥ 2 casos de cáncer de mama, uno de ellos diagnosticado con edad ≤ 50 años, o bilateral.
	1 caso de cáncer de mama diagnosticado con edad ≤ 50 años o bilateral, y 1 cáncer de ovario en familiar de primer o segundo grado.
	3 casos de cánceres de mama o 2 cánceres de mama y 1 de ovario, en familiares de primer o segundo grado.
	2 casos de cáncer de ovario en familiares de primer o segundo grado.
	1 caso de cáncer de mama en varón, y otro caso de mama (varón o mujer) u ovario en un familiar de primer o segundo grado.
Moderado riesgo	2 cánceres de mama en parientes de primer grado, diagnosticados entre los 51 y 60 años.
	1 cáncer de mama en un familiar de primer grado y otro en un familiar de segundo grado, si la suma de los años de diagnóstico es ≥ 118 años.

Las familias de moderado riesgo son candidatas a asesoramiento y medidas de seguimiento más allá de las poblacionales.

Se han publicado resultados que demuestran que los criterios clínicos y los procedimientos de prueba (*BRCA1* y *BRCA2*) a menudo son menos efectivos que eficaces, entendiendo por eficacia el rendimiento en circunstancias ideales y por efectividad el rendimiento en la vida real (33). En búsqueda de mejorar dicho ratio, los criterios clínicos han ido evolucionando. Posteriormente en el año 2015, la SEOM publicó otros criterios clínicos de alto riesgo para los que procedería realizar el estudio genético (34) (ver tabla 2) donde destacan unas cuantas diferencias respecto a los de la CAM 2005:

- En los criterios de la SEOM se incluyen las mujeres con cáncer de ovario epitelial no mucinoso de alto grado (o de trompa o primario peritoneal)
- Cáncer de mama triple negativo en la franja de pacientes de 40 a 50 años son incluidas como de alto riesgo según los criterios de la SEOM y no los de la CAM 2005.
- La SEOM establece un límite de edad de 50 años para el criterio de dos o más casos de cáncer de mama en familiares de primer grado y en los criterios de la CAM 2005 solo limita la edad a uno de ellos.

Tabla 2. Criterios para realización de la prueba genética síndrome de mama y ovario hereditario. SEOM 2015.

Criterios para la realización de la prueba genética en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario. SEOM 2015.

<p><u>Según historia personal y con independencia de la familiar</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> – 1 Cáncer de mama y 1 Cáncer de ovario sincrónico o metacrónico en la misma persona – 1 Cáncer de mama diagnosticado antes de los 35 años – 1 Cáncer de mama bilateral, cuando el 1º fue diagnosticado antes de los 40 años – 1 Cáncer de mama triple negativo diagnosticado antes de los 50 años – 1 Carcinoma de ovario epitelial no mucinoso de alto grado (o de trompa o primario peritoneal)
<p><u>Según historia familiar</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> – 1 Cáncer de mama bilateral + 1 Cáncer de mama diagnosticado antes de los 50 años – 1 Cáncer de mama + 1 cáncer de mama en el varón – 1 Cáncer de mama + 1 Cáncer de ovario – 2 Cáncer de mama diagnosticados antes de los 50 años

	– 3 Casos o más de cáncer de mama y/o cáncer de ovario (independientemente de la edad)
--	--

Se puede decir que los criterios clínicos de la SEOM incrementan la población con clasificación de alto riesgo en los casos en los que solo se tiene en cuenta la historia personal y limita un poco respecto a los que tienen en cuenta la historia familiar. Pero estas diferencias ¿serán estadísticamente significativas en el reparto de pacientes de alto riesgo?

Herramientas informáticas para el cálculo del riesgo

A día de hoy existen modelos para la estimación del riesgo de cáncer o de ser portadora de variante genética patogénica basadas en la historia personal y familiar, herramientas como BOADICEA (*Breast and Ovarian Analysis of Disease Incidence and Carrier Estimation Algorithm model*), IBIS (*International Breast Cancer Intervention Study model*), BRCAPRO y BCRAT (*Breast Cancer Risk Assessment Tool*) están entre las más utilizadas. En la tabla 3 (adaptada de Terry MB et al. (35)) podemos observar algunas de las características y diferencias existentes entre ellas.

Tabla 3. Características de las herramientas informáticas de cálculo del riesgo de cáncer de mama y ovario.

	BOADICEA VS4	BRCAPRO	BCRAT	IBIS
Información Personal				
<i>Edad actual</i>	Si	Si	Si	Si
<i>Año de nacimiento</i>	Si	No	No	No

<i>Raza</i>	No	Si	Si	No
<i>Edad de menarquia</i>	No	No	Si	Si
<i>Paridad</i>	No	No	No	Si
<i>Edad del primer parto</i>	No	No	Si	Si
<i>Estado menopáusico</i>	No	No	No	Si
<i>Uso de terapia hormonal</i>	No	No	No	Si
<i>IMC</i>	No	No	No	Si
<i>Historia de hiperplasia atípica</i>	No	No	Si	Si
<i>Historia de carcinoma lobular in situ</i>	No	No	No	Si
<i>Biopsia previa de mama</i>	No	No	Si	Si
<i>Densidad mamográfica</i>	No	No	No	Si
<i>Score de riesgo poligénico</i>	No	No	No	Si
Información acerca del individuo y sus familiares				
<i>Parientes de primer grado con cáncer de mama</i>	Si	Si	Si	Si
<i>Parientes con cáncer de mama de segundo y tercer grado</i>	Si	Si	No	Si
<i>Gemelo idéntico con cáncer mama</i>	Si	Si	No	No
<i>Edad de diagnóstico del cáncer</i>	Si	Si	No	Si
<i>Cáncer de mama bilateral</i>	Si	Si	No	Si
<i>Cáncer de ovario</i>	Si	Si	No	Si
<i>Cáncer de páncreas</i>	Si	No	No	No
<i>Cáncer de próstata</i>	Si	No	No	No

<i>Subtipo molecular del tumor de mama</i>	Si	Si	No	No
<i>Estado vital de los familiares</i>	Si	Si	No	Si
<i>Estado mutacional de BRCA1/2</i>	Si	Si	No	Si
<i>Herencia judía Askenazi</i>	Si	Si	No	Si

Destacamos que la última versión de IBIS vs8.0 permite incluir la información de un Score de Riesgo Poligénico (PRS) por acumulación de SNP (polimorfismos de un solo nucleótido) relacionados con el desarrollo de cáncer de mama y ovario.

Se ha estudiado que en las pacientes que no se detecta variantes genéticas patogénicas en *BRCA1/BRCA2*, el modelo IBIS muestra mayor área bajo la curva para la relación especificidad y sensibilidad (35).

1.4.3. Estudio o prueba genética

Ámbito de realización de los análisis genéticos

Resulta ciertamente frecuente la necesidad de externalizar la realización de los análisis genéticos a centros preparados para ello, con los recursos y materiales necesarios, procesos sistematizados y bajo directrices de calidad, así como con disposición de las últimas tecnologías del momento.

Análisis de la situación en España

Analizando los datos proporcionados por la SEOM y la Asociación Española de Genética Humana (AEGH) del año 2010, podemos observar una amplia externalización de pruebas genéticas, con un 54,17% de centros públicos que externalizan todas sus muestras y un 60% de centros privados. Un 22,22% de

centros de carácter público y un 13,33% de carácter privado externalizan solo una parte de las pruebas genéticas solicitadas (Ver ilustración 6).

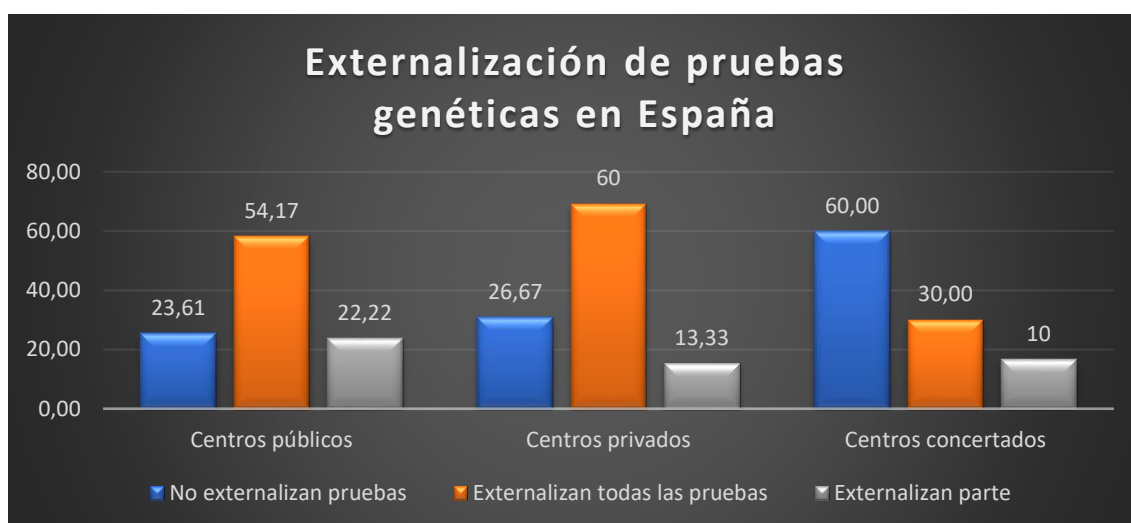


Ilustración 6. Análisis de la externalización de pruebas genéticas en España 2010.

Existe un mayor número de centros públicos con consulta de genética respecto a los privados. Sin embargo, hay un mayor número de centros privados que no requieren de la externalización de las muestras, es decir, que ofrecen conjuntamente la consulta de genética y la realización del estudio genético en el propio centro. Respecto a los centros concertados la mayor parte de ellos ofrecen el asesoramiento y la realización de las pruebas genéticas en el mismo centro (60%), el 30% de ellos externalizan las pruebas y el 16,67% externalizan parte de las pruebas genéticas (Ver tabla 4).

Tabla 4. Descripción de la externalización de pruebas genéticas en España año 2010.

Año 2010	Centros públicos	%	Centros privados	%	Centros concertados	%
Nº de centros con consulta de genética	72	-	30	-	10	-
Nº de centros con unidades de cáncer familiar	44	61,11	19	63,33	10	100,00

No externalizan pruebas	17	23,61	8	26,67	6	60,00
Externalizan todas las pruebas	39	54,17	18	60	3	30,00
Externalizan parte	16	22,22	4	13,33	1	10
Totales	72	100%	30	100%	10	100%

El 61,11% de los centros públicos, el 63,33% de los privados y el 100% de los concertados disponen de unidad de cáncer familiar.

En la actualidad (2019), han aumentado sustancialmente el número de consultas de genética a nivel nacional así como el número de laboratorios disponibles para la realización de los estudios genéticos (32) (ver tabla 5)

Tabla 5. Distribución de consultas de genética y laboratorios de análisis genéticos en España año 2019.

Año 2019	Centros públicos	%	Centros privados	%	Totales
Nº de centros con consulta de genética	85	81%	20	19%	105
Nº de laboratorios para análisis genéticos	49	64,5%	27	35,5%	76

Análisis de la situación en la Comunidad de Madrid

Respecto a la situación en 2010 en la Comunidad de Madrid, en los centros de carácter público la mayor parte de ellos externalizan la realización de las pruebas

genéticas (58,33%) y un 16,67% externalizan solo parte de las pruebas. En los centros privados el 40% externalizan las pruebas y el mismo porcentaje de centros ofrecen la realización del asesoramiento y la prueba genética en el mismo centro. Un 20% externalizan solo parte de las pruebas. Respecto al único centro concertado externaliza la realización de pruebas genéticas. El 100% de los centros públicos, el 80% de los privados y el 100% de los concertados disponen de unidad de cáncer familiar (ver ilustración 7 y tabla 6).

Tabla 6. Descripción de la externalización de pruebas genéticas en la Comunidad de Madrid año 2010.

Año 2010	Centros públicos	%	Centros privados	%	Centros concertados	%	Totales
➤ Nº de centros con consulta de genética	12		5		1		18
➤ Nº de centros con unidades de cáncer familiar	12	100	4	80	1	100	17
➤ No externalizan pruebas	3	25	2	40	0	0,00	5
➤ Externalizan todas las pruebas	7	58,33	2	40	1	100	10
➤ Externalizan parte	2	16,67	1	20	0	0,00	3

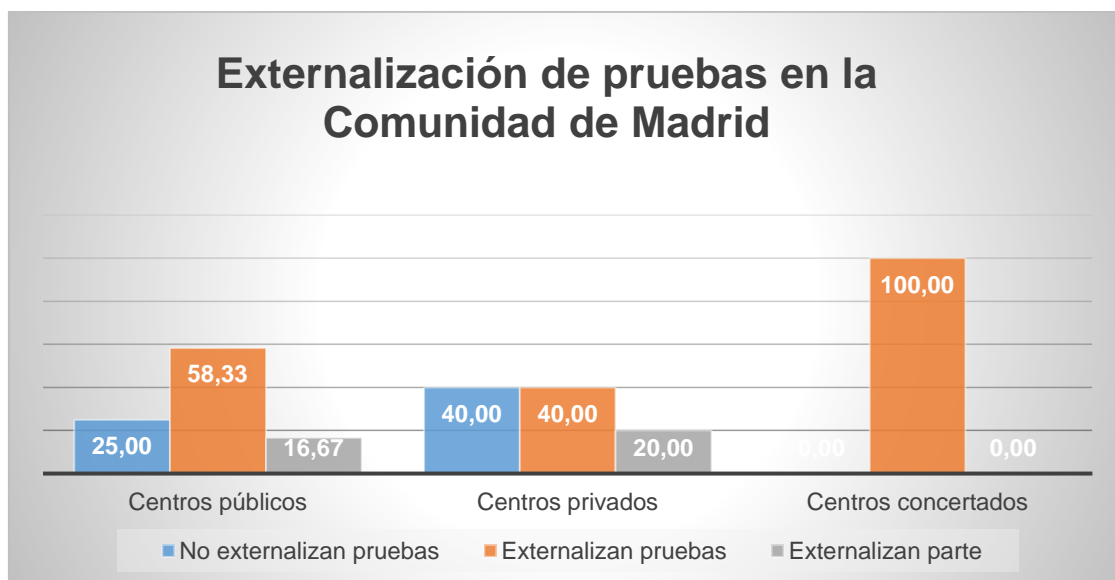


Ilustración 7. Representación de la externalización de pruebas genéticas en la Comunidad de Madrid 2010.

La distribución de consultas clínicas de genética y laboratorios para el análisis genético en la Comunidad de Madrid actualmente se pueden observar en la siguiente tabla (32).

Tabla 7. Distribución de consultas y laboratorios de análisis genéticos en la Comunidad de Madrid año 2019.

Año 2019	Centros públicos	%	Centros privados	%
➤ N° de centros con consulta de genética de cáncer familiar	17	74%	6	26%
➤ N° de laboratorios de análisis genéticos	7	58%	5	42%

En la actualidad podemos observar un crecimiento en el ámbito público tanto de consultas como de laboratorios de análisis genéticos sin embargo, en el ámbito privado el crecimiento ha sido menor.

Tipos de resultados

Si se aborda desde la implicación clínica, la prueba genética tiene dos posibles resultados (36):

1. Informativo: cuando se identifica una variante que explica el riesgo incrementado presente en la familia. Son informativas porque permiten individualizar las estimaciones de riesgo y por tanto, el AG. La mayor parte de las variantes patogénicas y probablemente patogénicas son de este tipo.
2. No informativo: cuando no se identifica una variante capaz de explicar el riesgo incrementado presente en la familia. De manera que el resultado no conlleva una modificación en la actuación respecto al manejo clínico del caso índice ni de sus familiares a riesgo. También podemos estar ante la detección de Variantes de Significado Desconocido (VSD). Las VSD son cada vez mayores en número con el uso de la tecnología de secuenciación masiva (NGS). Actualmente las VSD en *BRCA1* y *BRCA2* ha disminuido de un 13% a un 2% sin embargo la tasa de VSD aún sin reclasificar es bastante alta (20%-40%) (37). Respecto al asesoramiento realizado con dichas variantes es importante resaltar que estas no deben usarse para guiar las actuaciones médicas y que dichos pacientes deben manejarse en base a sus antecedentes familiares (27). Son variantes para las que hasta el momento no existe evidencia científica suficiente para conocer su relevancia clínica. Los estudios del impacto funcional en el empalme del ARN a menudo se utilizan para intentar dilucidar la causalidad de VSD en el desarrollo de cáncer (38).

Hay genes para los cuales las estimaciones de riesgo aún son inciertas. Estimaciones más sólidas de riesgos por edad se pueden hacer con estudios de segregación, estudios de casos y controles realizados correctamente, y estudios prospectivos que podrían derivar en la revisión de los enfoques de vigilancia y gestión para individuos con variantes patogénicas de penetrancia moderada asociadas con cáncer.

Informe de resultados

Existe un documento de consenso elaborado por la AEGH en el que recomiendan criterios mínimos que deben aparecer en un informe de resultados de un análisis genético por un panel de genes mediante NGS para ámbito asistencial (39)(ver tabla 8).

Tabla 8. Criterios mínimos de un informe de resultados genéticos por NGS. Adaptado de Soto et al.

CRITERIOS MÍNIMOS QUE DEBEN COMPONER UN INFORME DE RESULTADOS DE NGS SEGÚN DOCUMENTO DE CONSENSO AEGH

1. Identificación del laboratorio que realiza el estudio	2. Identificación del tipo de muestra
3. Identificación del profesional solicitante y destinatario	4. Fechas de obtención de la muestra y de emisión del resultado
5. Nº de identificación del informe	6. Tipo de estudio efectuado: diseño del panel
7. Identificación del individuo	8. Resultados

9. Identificación de la familia	10. Interpretación de los resultados
11. Indicación	12. Identificación del facultativo responsable de la validación del informe
13. Motivo de estudio	14. Anexo: limitaciones

1.4.4. Seguimiento y terapéutica

Portadores de variantes patogénicas en *BRCA1* y/o *BRCA2*

Respecto a estrategias de prevención en portadores de variantes patogénicas en *BRCA*, la SEOM (28) recomienda mamografía y resonancia magnética anual basándose en datos publicados, no muy consistentes, respecto al claro beneficio de supervivencia, pero si firmes respecto a la mejora de la supervivencia, libre de metástasis. Aún hay controversia en la literatura respecto a la idoneidad de la programación de las pruebas de imagen (ver tabla 9 (28)).

Las portadoras de variante patogénica en *BRCA1* y *BRCA2* que no han realizado salpingooforectomía profiláctica pueden realizar mamografía y determinación de CA 12.5 anualmente, sin embargo, esta recomendación no cubre de manera certera la detección temprana de cáncer de ovario.

Tabla 9. Evidencias y Recomendaciones a portadores de variantes patogénicas en *BRCA*.

Adaptado de SEOM 2019.

Evidencias y recomendaciones en portadores de variantes <i>BRCA</i>	
Edad	
Mujeres	
Auto palpación de mamas	Comenzar a partir de los 18 años
Examen clínico de mamas cada 6-12 meses	Comenzando a partir de los 25 años
Resonancia magnética anual	Desde los 30 hasta los 70 años
Mamografía anual	Desde los 30 o 35 hasta los 75 años
Ultrasonidos transvaginal y CA 12.5 cada 6-12 meses	A partir de los 30 años
Varones	
Auto palpación mamaria	Comenzando a partir de los 35 años
Examen clínico mamario anual	Comenzando a partir de los 35 años
Mamografía basal	Desde los 40 años (susceptible de ser individualizado a cada caso)
Cribado de cáncer de próstata anual	Comenzando a partir de los 40 años (Las guías de la NCCN (40) lo recomiendan en portadores de Variantes patogénicas en <i>BRCA2</i> y sugieren considerarlo en portadores de variantes patogénicas en <i>BRCA1</i>)
Varones y Mujeres	
Cáncer de páncreas y melanoma	Considerar individualizar el cribado basándose en la historia familiar
Cribado de cáncer colorectal especialmente en <i>BRCA1</i> (Hemorragias en heces anualmente o colonoscopia cada 5 años)	Comenzando a partir de los 40 años o antes según la historia familiar.

La falta de métodos de detección precoz de cáncer de ovario y el mal pronóstico que le acompaña hace que las estrategias preventivas de reducción de riesgo mediante salpingooforectomía profiláctica bilateral en mujeres que han sido madres y portan variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2*, sea de especial relevancia. Pues dicha intervención se ha asociado con una reducción del riesgo en un 80% de cáncer de ovario, trompa de Falopio o peritoneal en portadores de *BRCA1* o *BRCA2* y una reducción del 77% en la mortalidad por todas las causas encontrando también una reducción del cáncer de mama en un 50%.

La mastectomía bilateral reduce el riesgo de cáncer de mama en portadores de variantes patogénicas en un 90%. Ver recomendaciones de la SEOM en la siguiente tabla.

Tabla 10. Estrategias de reducción del riesgo quirúrgicas en portadores de Variantes patogénicas *BRCA1* y *BRCA2*.

Estrategias de reducción del riesgo quirúrgicas SEOM

<u>Edad</u>	<u>Recomendación</u>
<i>Mujeres portadoras entre los 35 y 40 años y que ya han sido madres o individualizando según la edad más temprana de detección del cáncer de ovario en la familia.</i>	Salpingooforectomía bilateral profiláctica * Se puede considerar terapia hormonal a corto plazo y dosis bajas en portadores ooforectomizados sin antecedentes personales de cáncer de mama pues parece a corto plazo mejorar la calidad de

Mujeres portadoras sanas	vida sin incrementar el riesgo de cáncer de mama.
Mujeres jóvenes con diagnóstico previo de Cáncer de mama	Mastectomía bilateral profiláctica
	Mastectomía contralateral profiláctica

Tabla 11. Estrategias de quimio prevención en portadoras de Variantes Patogénicas BRCA1 o BRCA2.

**Quimio prevención en portadoras de
Variantes Patogénicas BRCA1 o BRCA2**

Reducción del riesgo de Cáncer de mama contralateral	Tamoxifeno/ Raloxifeno
Cáncer de mama en mujeres > 35 años con alto riesgo	
Portadores de Variantes Patogénicas BRCA1	Evitar el uso de anticonceptivos orales

Tabla 12. Estrategias de tratamiento en portadoras de Variantes Patogénicas en BRCA1 o BRCA2.

**Estrategias de tratamiento en portadores de
Variantes Patogénicas BRCA1 o BRCA2**

Mujeres afectas de cáncer de mama en estadio temprano portadoras de variantes patogénicas BRCA1 o BRCA2	Mastectomía antes que cirugía conservadora por mayor riesgo de cáncer contralateral
---	---

<i>Mujeres afectas de cáncer de mama con neoadyuvancia o metástasis portadoras de variantes patogénicas BRCA1 o BRCA2</i>	<p>Carboplatino</p> <p>Inhibidores de la poli ADP ribosa polimerasa (PARP) (en estudio con deficiencia de receptores hormonales) pero se recomiendan como terapia de mantenimiento (Olaparib) en pacientes con cáncer de ovario seroso de alto grado sensible al platino recidivante</p>
---	--

Tabla 13. Seguimiento de mujeres sin detección de Variantes patogénicas en BRCA e historia familiar de alto riesgo.

Seguimiento de mujeres sin detección de variantes patogénicas en BRCA

Autoexamen mamario comenzando a los 18 años

Examen mamario clínico de 6 a 12 meses comenzando a los 25 años

Mamografía anual comenzando de los 40 a los 70 años o 10 años antes de la edad más temprana de diagnóstico de cáncer de mama en la familia

Si el riesgo a lo largo de la vida calculado por un modelo predictivo

BOADICEA o Tyrer-Cuzyck es >25-30% considerar Resonancia Magnética (RM) anual comenzando a partir de la edad en que su riesgo de cáncer de mama a 10 años alcanza el 5%.

No es necesario el cribado de cáncer de ovario en mujeres sin historia familiar de cáncer de ovario

1.5. LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS Y EL ASESORAMIENTO GENÉTICO

El uso de nuevas tecnologías, como es la NGS, en el campo del diagnóstico clínico a nivel asistencial está limitado, por un lado, posiblemente debido al coste del equipamiento necesario, la complejidad experimental asociada al procesamiento de las muestras y la ausencia de protocolos optimizados y estandarizados y, por otro, a las enormes dificultades asociadas al manejo y el análisis de los datos obtenidos (alineación, ensamblaje y anotación de variantes). Sin embargo, los precios cada vez se hacen más asequibles, gracias a la optimización de los procesos de manera que la capacidad de ejecutar paneles multigénicos es factible. Ello ha ampliado los criterios de elegibilidad y ha aumentado la demanda de pruebas, así como la demanda de personal especialista en genética y biología molecular.

La rapidez a la que los genes de riesgo pasan del ámbito de investigación al diagnóstico clínico asistencial tiene ciertos inconvenientes que obligan a hacer deducciones y tomar decisiones basadas en datos limitados. Por otro lado, la tasa de variantes de significado desconocido aumenta proporcionalmente a la extensión del genoma secuenciado. Muchos genes actualmente incluidos en los paneles multigénicos poseen información sobre estimación del riesgo de cáncer imprecisa y no hay consensos sobre cuando analizar un determinado gen o cómo manejar las variantes probablemente patogénicas y patogénicas (26).

Pocas son las iniciativas a nivel internacional sobre consenso de estrategias de gestión clínica de resultados de la prueba genética sobre genes *BRCA1*. Nielsen et al. recientemente publicaron los resultados de una encuesta internacional al respecto donde todos los participantes consideraron suficiente el riesgo asociado a *PALB2* para el cáncer de mama y a *BRIP1*, *RAD51C* y *RAD51D* para el cáncer

de ovario como para informar sobre la gestión clínica de variantes patogénicas en dichos genes que no se estudian habitualmente en la práctica clínica asistencial ni están incluidos en los programas de detección (26).

1.5.1. Búsqueda de nuevos genes candidatos

BRCA1 y *BRCA2* siguen siendo los principales genes de susceptibilidad involucrados en el SCMOH. Desde su descubrimiento hace más de 20 años, otros genes de moderado a alto riesgo de cáncer de mama y / u ovario se han descubierto (41).

La búsqueda de nuevos genes candidatos para el estudio de cáncer familiar se ha disparado desde la implantación de la NGS pues han facilitado los estudios de asociación de genoma completo en casos y controles. Hasta entonces la técnica de array-CGH ha sido ampliamente utilizada para búsqueda de asociación de variantes a distintos fenotipos de cáncer, sin embargo, la posibilidad de secuenciación del exoma es la que mediante estudios de investigación aporta día a día más información respecto a asociaciones de variantes y fenotipos de cáncer de manera que estudios de envergadura acaban respaldando la causalidad y estimando la prevalencia de dichas variantes patogénicas a nuevos genes.

Ha sido amplia la búsqueda de genes candidatos cuyas variaciones patogénicas justifiquen el desarrollo del SCMOH. La implicación del gen *BRCA2* en el desarrollo de la anemia de Fanconi dio pie a investigar la posible causalidad de genes implicados en esta última como posibles candidatos de estudio para SCMOH (42).

De hecho, un total de cuatro genes están involucrados de forma clara en ambos procesos, *BRCA2* (*FANCD1*), *RAD51C* (*FANCO*), *BRIP1* (*FANCJ*), *PALB2*

(*FANCN*). Además, *SLX4* (*FANCP*) y *XRCC2* podrían estar también involucrados en ambas patologías(43). Por otro lado, se ha publicado que aproximadamente el 1% de las familias *BRCA1* o *BRCA2* negativas en población española son portadores de mutaciones en el gen *RAD51D*(44).

Una revisión bibliográfica de la base molecular que subyace en el síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario del año 2013 (45) describe según la penetrancia varios genes involucrados en la susceptibilidad al desarrollo de este cáncer (ver tabla 14). Como ya hemos visto anteriormente muchos de estos genes a su vez se ven involucrados en el desarrollo de otros fenotipos de cáncer.

Tabla 14. Genes modificadores del riesgo de desarrollo de cáncer de mama y ovario hereditario (Adaptado de Kobayashi et al.).

Genes	Función	Penetrancia
<i>CDH1</i>	La pérdida de la función <i>CDH1</i> contribuye a la progresión del cáncer al aumentar la proliferación, invasión de cadherina 1, metástasis y transición epitelial-mesenquimal.	Alta
<i>NBS1</i> o <i>NBN</i>	Es miembro del complejo conocido como complejo esencial para el procesamiento de roturas de doble cadena de DNA y daño inducido al por activación del punto de control de <i>NBN</i> (<i>MRE11</i> / <i>RAD50</i> / <i>NBN</i> (<i>MRN</i>)).	Alta
<i>NF1</i>	Funciona como un regulador negativo de la vía de transducción de señales Ras / Raf / Erk.	Alta
<i>PTEN</i>	Es un gen supresor de tumores, está mutado en una gran cantidad de cánceres de alta frecuencia. <i>PTEN</i> es una fosfatidilinositol 3-	Alta

	fosfatasa y funciona como un supresor tumoral al regular negativamente la vía de señalización de AKT.	
TP53	La proteína codificada p53 responde a diversas señales de estrés celular para mantener la estabilidad genética, induce la detención del ciclo celular, la apoptosis, la senescencia, la reparación del DNA o los cambios en el metabolismo.	Alta
STK11	Regula la polaridad celular y funciona como un supresor tumoral.	Alta
ATM	La proteína codificada por este gen pertenece a la familia PI3 / PI4-quinasa. La activación de ATM es mediante interacciones con una amplia variedad de proteínas como la quinasa de punto de control CHK2, las proteínas RAD17 y RAD9 y NBN de reparación de DNA. La fosforilación de la quinasa CHK2 mediada por ATM activa una variedad de sustratos, incluidos los productos génicos CDC25C (ciclo de división celular 25 homólogo C), TP53 y BRCA1, que son necesarios para la inducción de la detención del ciclo celular G2 / M y la apoptosis después del daño al DNA.	Moderada

<i>ATR y RAD3</i>	ATR también activa varias proteínas clave importantes, incluida la quinasa de punto de control CHK1, TP53, BRCA1, RAD17 y RAD9. CHK1 fosforila la subunidad FANCE del complejo central de la anemia de Fanconi que está asociado con la vía FA-BRCA.	Moderada
<i>CHEK2</i>	Es un regulador del punto de control del ciclo celular, es esencial para la activación en respuesta al daño del DNA.	Moderada
Genes de la Anemia de Fanconi	Similar a <i>BRCA</i> , las proteínas de la Anemia de Fanconi forman un complejo funcional y están asociados con una nueva vía requerida para la reparación de daños en el DNA, particularmente enlaces cruzados entre cadenas de DNA.	Moderada
<i>FANCI</i>	Proteína del grupo J de anemia de Fanconi, también conocida como proteína de interacción BRCA1, helicasa C-terminal 1.	Moderada
<i>PALB2</i>	<i>PALB2</i> también conocido como <i>FANCN</i> , se identificó como una proteína que interactúa con <i>BRCA1</i> y <i>BRCA2</i> . <i>PALB2</i> está asociado con la formación del complejo <i>BRCA1-PALB2-BRCA2</i> y tiene un riesgo poco frecuente pero moderado de cáncer de mama.	Moderada*

CDK1	La quinasa dependiente de ciclina (CDK) es el impulsor de la progresión del ciclo celular. Parece necesaria para una respuesta adecuada al daño del DNA.	Moderada
RAD50 y su homólogo	Los genes <i>RAD</i> están involucrados en la reparación del DNA y son necesarios para ambos tipos de procesos de reparación, NHEJ (unión final no homóloga) y HR (recombinación homóloga).	Moderada
FGFR2	Es el receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos. Determinados SNP actúan como modificadores del riesgo de cáncer de mama y ovario hereditario especialmente en no portadores de variantes patogénicas en <i>BRCA1/2</i> .	Baja
LSP1	Es la proteína 1 específica de linfocitos codifica una proteína de unión a actina F intracelular y regula la motilidad de neutrófilos, la adhesión a las proteínas de la matriz de fibrinógeno y la migración transendotelial.	Baja
MAP3K1	MAP3K1 está asociado con la activación de las vías de quinasa ERK y JNK, así como con la vía NF- κ B.	Baja
TGFB1	Es el Factor de crecimiento transformado β 1. Determinados SNP han sido implicados en un	Baja

	riesgo elevado de Cáncer de mama con receptor de progesterona negativo.	
TOX3	Está involucrado en la alteración de la estructura de la cromatina. Determinado polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) se ha asociado con un mayor riesgo de supervivencia general en cáncer de mama	Baja
VEGF	Es el factor de crecimiento endotelial vascular. Juega un papel importante en la angiogénesis del tumor.	Baja
PGR	Es el receptor de progesterona. Relacionado con el incremento del riesgo de cáncer de ovario y endometrial.	Baja
KRAS	Una única sustitución de aminoácidos de KRAS, un miembro de la pequeña superfamilia de GTPasa, es responsable de una mutación activadora y da lugar a varias neoplasias malignas.	Baja

*Hay que señalar que, en la actualidad, hay publicaciones que consideran a *PALB2* como un gen de alta penetrancia para el desarrollo de cáncer de mama hereditario (46).

Para lograr la implementación clínica de pruebas de paneles multigénicos a través de la experiencia de prácticas basadas en la evidencia, es fundamental que los médicos y los pacientes participen en iniciativas internacionales, que

compartan resultados de las pruebas de paneles multigénicos, la interpretación de variantes y recopilen datos prospectivos para mejorar las estimaciones de riesgo, así como evaluar el resultado de las intervenciones de las estrategias de reducción del riesgo. Muy pocos estudios en la actualidad han evaluado el uso de paneles multigénicos pese a su uso cada vez con más frecuencia en la práctica clínica habitual (47) (48) (49).

Actualmente, una pequeña cantidad de genes de susceptibilidad al cáncer de mama y ovario, más allá de *BRCA1* y *BRCA2*, se analizan de forma rutinaria en todo el mundo mediante paneles multigénicos, y las guías clínicas para su gestión son limitadas y se basan en gran medida en la opinión de expertos. En 2018 el estudio ENIGMA (26) reveló que más del 50% de los centros participantes estudiaban 16 genes *BRCAX* para la susceptibilidad al cáncer de mama y ovario hereditario de manera rutinaria y que 6 de ellos aún con mayor adherencia (*PALB2*, *TP53*, *PTEN*, *CHEK2*, *ATM*, *BRIP1*). Se ha publicado que al menos un 2% de familias españolas con cáncer de mama se asocian con mutaciones patogénicas en línea germinal en el gen *ATM* (50).

1.5.2. Secuenciación masiva o secuenciación de próxima generación (NGS)

En la actualidad, la llamada técnica de secuenciación paralela o de próxima generación se está expandiendo y desarrollando rápidamente. Este proceso establece un salto de magnitud en la longitud de los fragmentos secuenciados y la velocidad con la que se lleva a cabo esta secuencia (51).

La secuenciación ha ido evolucionando, desde los secuenciadores de primera generación en los que mediante el método Sanger, se consiguió la secuenciación de un máximo de 96 secuencias de 800 nucleótidos (1975-2005) hasta la

secuenciación de segunda generación o NGS donde millones de fragmentos de DNA son secuenciados (2005 – Actualidad) (52).

La NGS permite detectar, además de mutaciones puntuales, inserciones, deleciones, variaciones en el número de copias y translocaciones.

Estrategias de secuenciación

Existen diferentes estrategias de secuenciación:

1. Secuenciación dirigida: se analiza la detección de variaciones genéticas patogénicas o probablemente patogénicas en un grupo reducido de genes o en regiones no codificantes seleccionados en relación al fenotipo del paciente.
2. Secuenciación con paneles multigénicos: se utilizan para secuenciar genes todos ellos conocidos por lo que se suelen centrar en el cribado genético para determinadas patologías.

Entre las ventajas e inconvenientes del uso de paneles multigénicos en el diagnóstico de cáncer familiar están (52):

- La falta de estrategias de actuación y gestión de riesgos en casos de variantes patogénicas en genes de moderada penetrancia.
- El incremento del número de variantes de significado desconocido sin posibilidad modificar la acción clínica en la actualidad.
- Al ser paneles normalmente comerciales se orientan a patologías más frecuentes olvidando por ejemplo en el caso del cáncer a regiones de relevancia para el cáncer infantil. Por otra parte, al estar dirigidos a regiones conocidas, no permiten descubrir nuevos genes potencialmente implicados en cáncer, pero si nuevas asociaciones entre SNP y enfermedad.

- La posibilidad de detectar hallazgos incidentales, pues suelen incluir un gran número de genes muchos de ellos implicados también en otras patologías que no son las que motivaron el estudio.
 - El incremento del diagnóstico genético entre un 7-10% para pacientes con agregación familiar pero resultado negativo para variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2* y del diagnóstico genético precoz en familiares.
 - La reducción de mortalidad asociada al cáncer de mama familiar por el diagnóstico genético precoz del estudio de otros genes *BRCA1* y de la selección de tratamientos de terapia génica personalizada.
 - La mayor contribución al incremento de conocimiento de las bases de datos poblacionales de variantes genéticas.
 - La optimización de la relación entre la cobertura y profundidad de lectura (es el número promedio de lecturas que incluyen un nucleótido dado en la secuencia reconstruida (53)). Esto hace factible la detección de variantes de muy baja frecuencia, así como un análisis rápido y fiable.
3. Secuenciación del exoma: el exoma es la parte codificante del genoma, capaz de expresarse y dar lugar a proteínas. Esta estrategia permite identificar nuevos genes y variantes potencialmente implicadas en la enfermedad. Sin embargo, debido a la mayor envergadura de regiones a secuenciar es más factible reduciendo la profundidad de lectura. Esto hace que se pierda la capacidad de detectar mutaciones subclonales.

Además, el número de variantes detectadas es mucho mayor lo que dificulta su interpretación. En el caso del cáncer es muy recomendable el análisis pareado de sangre y tumor.

4. Secuenciación del genoma: en la actualidad, se usa principalmente en investigación y permite secuenciar DNA cromosómico y mitocondrial. Permite identificar variantes no codificantes que pueden estar asociadas con la enfermedad. Esta estrategia requiere de secuenciadores de alto rendimiento que no suelen estar disponibles lo que la hace menos accesible además de por su elevado coste y complejidad.

Metodologías

Existen diferentes metodologías de secuenciación NGS (53):

- La revolución de la NGS comenzó con la pirosecuenciación, en este caso se realiza detectando el nucleótido incorporado mediante reacciones enzimáticas después de las cuales el sustrato emite luz.
- Otra metodología es la secuenciación por amplicones, consiste en una secuenciación ultra profunda de productos de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) cuya principal finalidad es analizar variaciones genéticas.
- NGS paralela utiliza el concepto de procesamiento paralelo masivo en miniatura.
- Lectura por pair-end: el secuenciador comienza a leer el fragmento de DNA en un extremo, termina esta dirección con la longitud de lectura especificada y luego comienza otra ronda de lectura desde el extremo opuesto del fragmento

- Secuenciación por síntesis: se realiza detectando el nucleótido incorporado por una DNA polimerasa
- Secuenciación por semiconductor: la secuenciación se realiza mediante la detección de iones de hidrógeno que se liberan durante la incorporación del nucleótido.

Flujo de trabajo y control de calidad

La NGS consiste en una serie de pasos (54) (ver ilustración 8) que contribuyen de forma exclusiva a la calidad de los datos en conjunto.

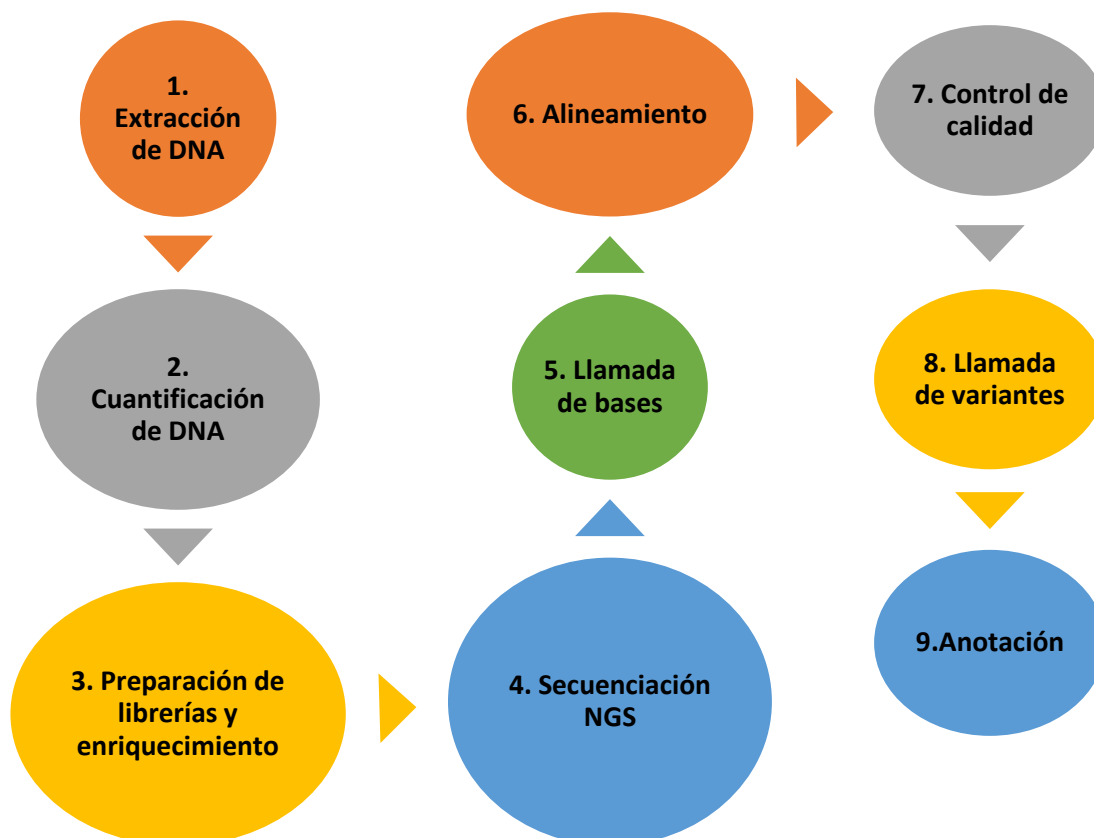


Ilustración 8. Procesos de trabajo en secuenciación de próxima generación (NGS). Adaptado de Serrati et al.

La secuencia de métricas de calidad puede proporcionar información importante sobre la precisión de cada paso en este proceso, incluida la preparación de la librería, la llamada de bases, el alineamiento y la llamada de variantes.

La precisión de la llamada de bases, medida por el puntaje de calidad de Phred (puntaje Q), es la métrica más comúnmente utilizada para evaluar la precisión de una plataforma de secuenciación. Indica la probabilidad de que una base dada sea llamada incorrectamente por el secuenciador.(55)

Situación actual

La AEGH en el último congreso de genética humana realizado en Madrid del 3 al 5 de Abril de 2019 (56) presentó los resultados de una encuesta sobre la situación en España de la implementación de la NGS en el diagnóstico genético de predisposición hereditaria a cáncer. Los resultados de dicha encuesta reflejaron que:

- 91% de los 35 laboratorios de distribución nacional que participaron usan NGS para diagnóstico genético de predisposición hereditaria al cáncer y en 2015 hubo un pico de elaboración de informes de resultados.
- El 44% utilizan paneles comerciales y el 42% tienen entre 51 y 150 genes.
- El 66% manifiestan que el alcance analítico del panel garantiza un nivel de detección de variantes genéticas del 100% en las regiones de interés definidas. Se cubren los gaps conocidos, o que no cumplan con los requisitos de calidad exigidos, mediante secuenciación Sanger.
- El 91% de los laboratorios confirman las variantes patogénicas y probablemente patogénicas y el 53% las VSD por Sanger. Destaca un alto porcentaje de laboratorios 47% que no confirman las VSD.
- El 84% de los laboratorios informan las VSD en el informe de resultados.
- El 74% de los laboratorios reevalúan la reclasificación de VSD a petición del clínico o del asesor genético.

- El 34% de los laboratorios informan los hallazgos inesperados y el 31% no. El 17% según la decisión del paciente en el consentimiento informado (CI) y el resto según consulta con el clínico o comité evaluador.
- El 53% de los facultativos no están acreditados ni por la AEGH ni por EBMG (*European Clinical Laboratory Geneticist*).
- El 70% de laboratorios participan en programas de calidad.
- Solo el 41% de los laboratorios están certificados por la ISO 9001 y el 15% acreditado por la ISO 15189.

En conclusión, existe una amplia implantación de la NGS para el diagnóstico genético de la predicción hereditaria al cáncer, pero con necesidad de varias mejoras.

1.5.3. Clasificación de variantes genéticas

Para la clasificación de las variantes tendremos en cuenta las evidencias científicas (22) basadas en:

1. Secuencia de DNA: en genes supresores de tumores las variantes que truncan un dominio funcional de la proteína tienen alta probabilidad de ser patogénicas. La importancia que se debe dar a este criterio debe matizarse para los oncogenes, en los que la pérdida de función no es el mecanismo de patogenidad.
2. Aspectos clínicos y moleculares: como ya hemos visto anteriormente los fenotipos de cáncer a menudo en las familias de riesgo para cáncer de mama y ovario se encuentran entre mezclados por lo que el fenotipo en este caso no es de mucha ayuda. Sin embargo, la información sobre la segregación implica una elevada probabilidad de patogenidad. No obstante, no es una información sencilla debido a la penetrancia

incompleta, la posibilidad de fenocopias y la tendencia hacia menores tamaños de las familias. Otro aspecto es la frecuencia alélica de la variante en la población general a mayor frecuencia menor patogenicidad. Por otro lado, las características anatomopatológicas del tumor a menudo apuntan a la presencia de variantes patogénicas en genes concretos. Por último, la coocurrencia de variantes junto a otras clasificadas como patogénicas aportan evidencia sobre la clasificación.

3. Aspectos funcionales: se utilizan con frecuencia para caracterizar variantes en contextos experimentales y son muy intuitivas para los investigadores experimentales. Incluye los estudios de predicciones in silico que actualmente constituyen un grupo abundante de calculadoras, pero bastante diverso respecto a sensibilidad y especificidad por lo que suelen constituir una información adicional a otros datos. Los ensayos funcionales experimentales a nivel de RNA y proteína son otros recursos limitados en su disponibilidad.

Guías clínicas y Recomendaciones

Un problema de envergadura es la falta de estandarización en la clasificación clínica de variantes. Nos encontramos ante distintos niveles de evidencia respecto a la relevancia clínica de las variantes.

En 2008 la IARC (57) recomendó el uso de un score calculado mediante un modelo de probabilidad multifactorial para clasificar las variantes de genes de alto riesgo de cáncer (ver tabla 15).

Tabla 15. Clasificación de variantes probabilística multifactorial IARC. Adaptado de Eccles et al.

Clase de variante	Probabilidad de ser patogénica	Estudio de familiares en riesgo	Recomendaciones de seguimiento en portadores
1 Benigna	<0,001	No	Población general
2 Probablemente benigna	0,001-0,049	No	Población general
3. VSD	0,05-0,949	No	Según historia familiar y otros factores de riesgo
4. Probablemente patogénica	0,95-0,99	SI	Recomendaciones de seguimiento de alto riesgo
5. Patogénica	>0,99	SI	Recomendaciones de seguimiento de alto riesgo

Un grupo internacional de investigadores unidos con motivo de determinar la importancia clínica de variantes en los genes de cáncer de mama bajo las siglas ENIGMA (58) desarrollaron una estrategia para la clasificación de variantes en *BRCA1* y *BRCA2*. Pero la guía más reciente y más extendida es la clasificación de variantes propuesta en 2015 por el Colegio Americano de Medicina Genómica y la Asociación de Patólogos Moleculares (59) que se fundamenta en 28 criterios clasificados según el grado de evidencia y basados principalmente en datos poblacionales, in silico, funcionales y de segregación. Este sistema

posteriormente fue mejorado en 2017 (60) que aclara los criterios de clasificación en determinadas excepciones y casos extremos. Ver criterios en las siguientes tablas.

Tabla 16. Interpretación de las categorías de clasificación de variantes de la Sociedad Americana 2015. Traducido de Sue Richards et al.

Categoría Significado

Evidencia de patogenicidad Muy fuerte (PVS) y Fuerte (PS)	
PVS1	Variante nula (sin sentido, cambio del marco de lectura, canónica ± 1 o 2 sitios de empalme, codón de iniciación, delección simple o múltiples exones) en un gen donde la pérdida de función es un mecanismo conocido de enfermedad.
PS1	El mismo cambio de aminoácidos que una variante patogénica establecida previamente, independientemente del cambio de nucleótidos.
PS2	De novo (tanto maternidad como paternidad confirmadas) en una paciente con la enfermedad y sin antecedentes familiares.
PS3	Estudios funcionales in vitro o in vivo bien establecidos que respalden un efecto dañino en el gen o producto génico
PS4	La prevalencia de la variante en los individuos afectados aumenta significativamente en comparación con la prevalencia en los controles.
Evidencia de patogenicidad moderada (PM)	
PM1	Ubicado en un punto caliente mutacional y / o dominio funcional crítico y bien establecido (por ejemplo, sitio activo de una enzima) sin variación benigna.

<i>PM2</i>	Ausente en los controles (o con una frecuencia extremadamente baja si es recesivo) en las bases de datos de Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project o Exome Aggregation Consortium
<i>PM3</i>	Para trastornos recesivos, detectados en trans con una variante patogénica
<i>PM4</i>	La longitud de la proteína cambia como resultado de eliminaciones / inserciones en el marco de una región no repetida o variantes de stop-loss
<i>PM5</i>	Nuevo cambio de sentido erróneo en un residuo de aminoácido donde se ha visto antes un cambio de sentido diferente clasificado como patógeno
<i>PM6</i>	Asumido de novo, pero sin confirmación de paternidad y maternidad.

Evidencia de patogenicidad probada (PP)

<i>PP1</i>	Cosegregación con enfermedad en múltiples miembros de la familia afectados en un gen que definitivamente se sabe que causa la enfermedad
<i>PP2</i>	Variante sin sentido en un gen que tiene una tasa baja de variaciones sin sentido clasificadas como benignas y en el que las variantes sin sentido son un mecanismo común de enfermedad
<i>PP3</i>	Múltiples líneas de evidencia computacional respaldan un efecto nocivo sobre el gen o producto genético (conservación, evolución, impacto de empalme, etc.)

PP4	El fenotipo o los antecedentes familiares del paciente son altamente específicos para una enfermedad con una sola etiología genética.
PP5	Una fuente confiable recientemente informa que la variante es patógena, pero la evidencia no está disponible para que el laboratorio realice una evaluación independiente
Evidencia de impacto benigno independiente (BA)	
BA1	La frecuencia alélica es > 5% en las bases de datos de Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project o Exome Aggregation Consortium
Evidencia de impacto benigno fuerte (BS)	
BS1	La frecuencia alélica es mayor de lo esperado para el trastorno
BS2	Observado en un individuo adulto sano por un trastorno recesivo (homocigoto), dominante (heterocigoto) o ligado al cromosoma X (homocigótico), con una penetrancia completa esperada a una edad temprana
BS3	Los estudios funcionales bien establecidos in vitro o in vivo no muestran ningún efecto perjudicial sobre la función de las proteínas o el empalme
BS4	Falta de segregación en los miembros afectados de una familia.
Evidencia de impacto benigno probada (BP)	
BP1	Variante sin sentido en un gen para el que se sabe que las variantes principalmente truncadas causan enfermedad

<i>BP2</i>	Observado en trans con una variante patogénica para un gen / trastorno dominante totalmente penetrante u observado en cis con una variante patogénica en cualquier patrón de herencia
<i>BP3</i>	Eliminaciones / inserciones en marco en una región repetitiva sin una función conocida
<i>BP4</i>	Variante encontrada en un caso con una base molecular alternativa para la enfermedad
<i>BP5</i>	Variante encontrada en un caso con una base molecular alternativa para la enfermedad
<i>BP6</i>	Una fuente de buena reputación informa recientemente que la variante es benigna, pero la evidencia no está disponible para que el laboratorio realice una evaluación independiente.
<i>BP7</i>	Una variante sinónima (silenciosa) para la cual los algoritmos de predicción de empalme no predicen ningún impacto en la secuencia de consenso de empalme ni la creación de un nuevo sitio de empalme Y el nucleótido no está altamente conservado

Tabla 17. Combinaciones de categorías de clasificación de variantes de la Sociedad Americana 2015. Traducido de Sue Richards et al.

<u>Combinaciones de categorías</u>	<u>Interpretación</u>
1. PVS1+: <ul style="list-style-type: none"> • ≥ 1 (PS1-PS4) o • ≥ 2 (PM1-PM6) o • 1 (PM1-PM6 y 1 (PP1-PP5) o • ≥ 2 (PP1-PP5) 	Patogénica

<p>2. ≥ 2(PS1-PS4) o</p> <p>3. 1 (PS1-PS4) y:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ≥ 3(PM1-PM6) o • 2(PM1-PM6) y ≥ 2 (PP1-PP5) o • 1(PM1-PM6) y ≥ 4(PP1-PP5) 	
<p>1. PVS1 y 1(PM1-PM6) o</p> <p>2. 1 (PS1-PS4) y 1-2(PM1-PM6) o</p> <p>3. 1(PS1-PS4) y ≥ 2(PP1-PP5) o</p> <p>4. ≥ 3(PM1-PM6) o</p> <p>5. 2(PM1-PM6) y ≥ 2 (PP1-PP5) o</p> <p>6. 1(PM1-PM6) y ≥ 4(PP1-PP5)</p>	Probablemente patogénica
<p>1. 1 BA1 o</p> <p>2. ≥ 2(BS1-BS4)</p>	Benigna
<p>1. 1 (BS1-BS4) y 1(BP1-bP7) o</p> <p>2. ≥ 2(BP1-BP7)</p>	Probablemente benigna
<p>1. No se cumplen otros criterios anteriores</p> <p>2. Los criterios para benigna y patogénica son contradictorios</p>	VSD

Bases de datos con clasificación de variantes

Podemos clasificar las bases de datos (59) en poblacionales, específicas de enfermedad y de secuencia.

Existen numerosas bases de datos poblacionales públicas con información sobre la frecuencia alélica en series amplias de pacientes (gnomAD, 1000 Genomes Project, ExomeVariant Server, dbSNP...) que como hemos visto es una evidencia bastante utilizada para la clasificación de variantes.

Respecto a las específicas de enfermedad destacan ClinVar, OMIM, HGMD etc. El Colegio Americano de Genética Médica recomendó el uso de la base de datos ClinVar como depósito estandarizado de la interpretación de variantes.

Entre las bases de datos de secuencias más frecuentes están NCBI Genome, RefSeqGene etc.

A nivel comercial se ofrecen plataformas informáticas que presentan los resultados del experimento junto con la información necesaria para la clasificación de la variante haciendo una llamada a la información disponible en las bases de datos o a interpretaciones previas de otros profesionales frente a la misma variante, así como los criterios según la clasificación americana 2015 que cumplen las variantes. Algunos ejemplos son Varsome clinical-Saphetor (61), Sophia DDM(62), entre otras.

Las bases de datos pueden ser usadas para acceder a la información, pero se deberían usar con cautela.

1.5.4. Hallazgos incidentales o secundarios

Se consideran hallazgos incidentales a *“un hallazgo sobre un participante que tiene importancia potencial para la salud o la reproducción y se descubre en el curso de la investigación pero está más allá de los objetivos del estudio”* (63).

Estos hallazgos resultan ser motivo de intensa controversia ética en la comunidad científica (64) y no disponen de regulación legal hasta el momento.

Estos hallazgos incidentales se obtienen al secuenciar con estrategias amplias

(paneles multigénicos, exomas y genomas) y que no eran el motivo inicial de estudio.

Los hallazgos inesperados pueden clasificarse en:

- Aquellos que permiten tomar decisiones relevantes para la salud.
- Aquellos cuyo significado es irrelevante para la salud.
- Aquellos cuyo significado es desconocido en el momento de informar al paciente.

Con esto se ha llevado a debate el "derecho a no saber" respecto a este tipo de hallazgos que surgen del estudio no dirigido por estrategias de NGS.

Las recomendaciones del Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (ACMG) publicadas en 2013 (65) instan a informar sobre los hallazgos incidentales patogénicos o probablemente patogénicos que pretenden ser precisos y procesables y especifican 56 genes y 24 trastornos que deben analizarse cuando se usa secuenciación de exoma o genoma ya que están asociados a fenotipos para los cuales las medidas preventivas o tratamientos están disponibles y para estos casos están de acuerdo en no respetar el “derecho a no saber” no el de “autonomía del paciente”. Este listado posteriormente (año 2017) ha sido actualizado a 59 genes y un gen fue retirado (MYLK) (66). No se recomienda informar VSD.

Sin embargo, numerosos casos clínicos plantean la cuestión de cómo son los resultados que se obtienen y que muchos de ellos son de importancia incierta. La información ansiosa y la necesidad de obtener más información para aclarar la importancia incierta de dichas variantes parece por tanto, amenazar el derecho a no saber (67).

Normalmente es más frecuente encontrar estos hallazgos en un entorno de investigación por la estrategia de secuenciación utilizada (más frecuentes en exoma y genoma) aunque también es cierto que cada vez se acercan más estas estrategias al ámbito asistencial (exoma clínico). Respecto a lo que los pacientes quieren, parece observarse cada vez más el perfil de paciente que quiere tener la máxima información (incluso si esta no conlleva actuación clínica) (63).

Otra cuestión de interés es si resulta coste efectivo comunicar estos hallazgos, hay estudios que concluyen que si resulta rentable para ciertas poblaciones aunque su uso en individuos generalmente sanos puede no serlo a menos que el precio de la NGS para genoma caiga por debajo de 450 euros (68) (coste que suele rondar los 1000 euros actualmente)

Por lo tanto, en la literatura parece concluirse que para resultados cuya interpretación es incierta o cuyo resultado no conlleva acción clínica en favor de reducir la morbilidad o mortalidad en pacientes y familiares o en favor de poder aplicar estrategias para no transmitir a la descendencia, no se debe incumplir el derecho de autonomía del paciente ni el derecho a no saber.

1.5.5. Riesgo por acumulación de polimorfismos

Últimamente la información de alelos de riesgo al cáncer de mama ha crecido sustancialmente con las estrategias más amplias de NGS. Se han identificado más de 150 alelos de bajo riesgo para cáncer de mama mediante estudios de asociación del genoma completo (69).

Para mejorar la precisión de las estimaciones de riesgo de susceptibilidad al cáncer y por tanto el manejo clínico, el modelo poligénico establece que se deberían analizar todos los loci implicados conocidos (independientemente del RR conferido por cada uno de ellos). Su uso por medio del cálculo de un Score

de Riesgo Poligénico (PRS) en el que se incluya el efecto sumatorio de SNP asociados a cáncer de mama, podría ser de utilidad para estratificar toda la población en función de su riesgo genético de un modo mucho más preciso que el actual, haría que las estimaciones fueran independientes de los antecedentes familiares (22) o se complementasen, otra cuestión es si sería coste efectivo.

Por tanto, la inclusión de los SNP asociados a cáncer de mama en la evaluación de riesgos puede proporcionar una predicción de riesgo más precisa que la historia familiar sola y puede influir en las recomendaciones para el cribado del cáncer y las modalidades de prevención para mujeres de alto riesgo (70).

Hongyan et al. (71) publicaron una fórmula para estimar el efecto sumatorio de 24 SNP conocidos que se relacionan de manera diferente con el desarrollo de cáncer de mama. Esta fórmula posteriormente ha sido validada en población española con ciertas modificaciones e incluyendo más SNP, cambios realizados con el objeto de considerar en dicha estimación factores de riesgo modificables y no modificables (72). Los resultados mostraron un mejor poder discriminatorio del PRS de 92 SNP que el efecto de los factores modificables y no modificables. El efecto sumatorio de los SNP y los factores no modificables mejoró la clasificación de pacientes en un 23,6%.

Parece que la investigación respecto al riesgo de cáncer tiene mucho que crecer por esta vía. Pero a pesar de estos descubrimientos, aún hay alrededor de un 50% de casos con cáncer de mama familiar sin explicar la causa genética que a su vez resultan en una de las principales líneas de investigación en el cáncer (16).

1.6. MARCO BIOÉTICO DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO

La Ética es la reflexión crítica sobre los valores y principios que guían nuestras decisiones y comportamientos y su aplicación en las ciencias de la vida es lo que se conoce como Bioética (73).

Los principios bioéticos fundamentales para la protección de los seres humanos fueron recogidos en el informe Belmont (1978) (74).

1.6.1. Principio de autonomía.

El paciente puede decidir si quiere o no someterse a una prueba genética y si quiere o no conocer los resultados derivados de éste. Las pruebas son de naturaleza voluntaria. De este principio deriva el CI como máxima expresión que demuestra que se ha aplicado el principio de autonomía. Constituye un derecho del paciente y un deber del facultativo.

El AG entendido como no directivo se relaciona de manera estrecha con este principio. El facultativo no dirige el proceso de toma de decisiones de manera que se limita a proporcionar toda la información necesaria para tomar una decisión informada por parte del paciente.

Sin embargo, nuevos modelos de AG han surgido al mostrar sus carencias el modelo no directivo dominante actualmente. En el modelo de toma de decisiones compartida, el facultativo y el paciente comparten información y la integran para tomar una decisión en la que los hechos objetivos se integran con los valores personales y emociones del paciente. Supone un punto intermedio entre el modelo no directivo en el que el facultativo se limita a proporcionar información para dejar todo el proceso de toma de decisiones al paciente y el modelo paternalístico de supremacía por parte del facultativo.

Las nuevas tendencias acentúan la necesidad de proporcionar un soporte psicológico y emocional adecuado al paciente en el contexto del AG.

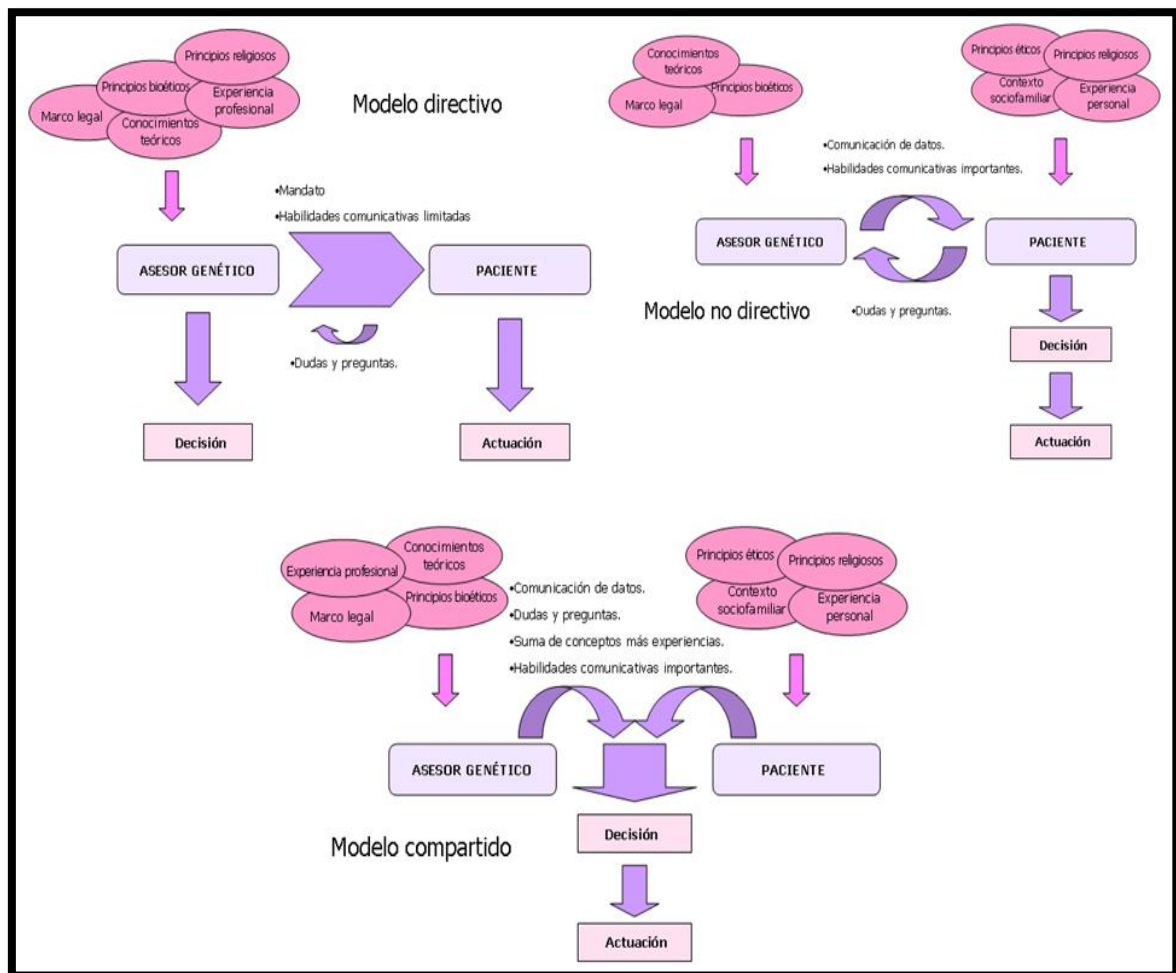


Ilustración 9. Modelos de Asesoramiento Genético.

1.6.2. Principio de beneficencia.

Representa la obligación de actuar en beneficio del paciente, promoviendo sus intereses. El asesoramiento y estudio genéticos sólo se debería ofrecer cuando se conozca que los beneficios para el individuo superan los posibles riesgos derivados del procedimiento.

1.6.3. Principio de no maleficencia (*primum non nocere*)

No realizar acciones que puedan causar daños a los individuos y, en el caso del AG, proteger de los posibles daños derivados como pueden ser los psicológicos y alteraciones en las relaciones familiares y/o sociales.

1.6.4. Principio de justicia

Todas las personas tienen derecho a los mismos tratamientos cuando se den las mismas condiciones. Por tanto, el acceso a las pruebas genéticas y al AG asociado debe ser equitativo entre la población. Para ello, es necesario una correcta planificación de los recursos necesarios y políticas educativas sobre la disponibilidad de los servicios de genética, así como una actualización de los programas de detección y asesoramiento.

Además, hay que asegurar los siguientes derechos: el derecho a no saber; el derecho a la confidencialidad de los datos personales y, singularizando a los datos genéticos; el derecho a la no discriminación; y el de decidir sobre la custodia y posible uso en investigación de las muestras.

1.6.5. Conflictos éticos

Algunos de los conflictos éticos que se presentan en el acto de AG y respecto a las pruebas genéticas.

Respecto a las limitaciones del estudio genético.

Algunas pruebas genéticas no son capaces de identificar todas las posibles mutaciones genéticas o tienen un valor predictivo escaso o una información clínica incierta. Por ello, las familias se ven abocadas a tomar decisiones difíciles sin toda la información que desearían. La incertidumbre, por ejemplo de la gravedad predicha de una enfermedad, puede ser difícil de manejar para pacientes y facultativos.

Cuando No hay tratamiento disponible.

En ciertas condiciones, el estudio genético puede llevar al diagnóstico de una enfermedad intratable en el momento del diagnóstico. En estas condiciones la balanza entre beneficios y riesgos puede verse alterada.

Confidencialidad vs advertir a parientes.

Durante la práctica clínica genética se puede dar la situación en el que el derecho de confidencialidad del paciente entre en conflicto con el deber del facultativo de advertir a los parientes. Por un lado, el respeto por la autonomía del paciente y la confidencialidad entre paciente y facultativo son pilares sobre los que se sustenta la práctica médica habitual. Por el otro, el facultativo tiene un deber moral de beneficencia (hacer el bien).

Se han dado casos de sentencias judiciales americanas respecto a la información de la condición de afectos de VIH y la información a parejas (75) en las que se recalca el deber del facultativo de advertir y que el privilegio de protección acaba cuando el peligro público comienza. Aunque sin las características de la patología infecciosa, si hay condiciones genéticas en las que aportando la información se puede prevenir una enfermedad potencialmente letal.

Como ya hemos comentado anteriormente la Sociedad Americana de Genética Humana promulga que se revele la información cuando el daño es probable, serio, inmediato y previsible. Sin embargo, hay pocos casos de diagnósticos genéticos que causen un riesgo inmediato y que se puedan modificar substancialmente con una actuación. La mayoría de las acciones tras un diagnóstico genético lo que permiten es reducir el riesgo de padecer

las enfermedades, ya sea mediante un seguimiento exhaustivo, acciones profilácticas o cambios conductuales.

En este ámbito de conflicto ético (76), es donde toma especial valor el modelo de toma de decisiones compartida donde el facultativo entra en el proceso de toma de decisiones.

Pruebas genéticas directas al consumidor

El término “análisis genéticos directos al consumidor” se utiliza para describir servicios analíticos que se ofertan para detectar SNP y variaciones genéticas relacionadas con la salud. Ello comprende cualquier tipo de análisis genético disponible para las personas al margen de un contexto asistencial, incluyendo análisis genéticos relativos al estilo de vida, los cuales proporcionarían recomendaciones acerca de la dieta o la vida cotidiana (práctica de deportes, etc.).

La proliferación online de estas pruebas ha levantado mucha preocupación acerca de sus valores tanto éticos como clínicos. Las pruebas se ofrecen para un amplio rango de condiciones con penetrancia y riesgo variable. Los resultados de estas pruebas a menudo carecen de su sensibilidad, especificidad y valor predictivo dificultando la interpretación de los resultados. Esto se agrava porque se puede carecer de AG individualizado dado que la prueba se realiza fuera del contexto y de la relación facultativo y paciente. Además, muchas de las compañías no son del todo claras con el posible uso comercial derivado de la investigación con muestras de los pacientes. Aquí el principal debate está entre la autonomía del paciente y su protección frente a un daño derivado de la realización de la prueba genética sin un correcto AG (77).

Resumiendo, hay por lo menos tres áreas específicas que necesitan una valoración ética urgente ante la llegada de la NGS:

- Las limitaciones del CI actual: un aspecto de vital importancia es establecer cuándo se dispone de las muestras biológicas almacenadas, en qué circunstancias un CI para estudios genéticos dirigidos puede ser válido o cuándo se requiere un nuevo consentimiento.
- El manejo de los hallazgos accidentales en la secuenciación del genoma: la obligación ética de comunicar este tipo de resultados es un tema sin resolver. No existe consenso en la literatura ética, hay unos autores a favor y otros en contra. La situación es similar desde el punto de vista legal; el problema no está resuelto. Está en marcha un estudio en el que se pregunta a los miembros de los comités institucionales su opinión sobre el manejo de estos hallazgos accidentales en el contexto de una secuenciación del genoma: cómo y en qué circunstancias deben comunicarse los hallazgos y, naturalmente, los razonamientos que fundamentan sus opiniones.
- La secuenciación del exoma o del genoma en el contexto de un diagnóstico prenatal: aunque se ha valorado muy poco este tema, se ha postulado el hecho de que se podría privar al feto de su derecho, en el futuro, de no querer conocer su información genética. En el caso de los estudios en niños, esta autonomía se preserva pero por el momento, no ocurre lo mismo en el contexto prenatal.

1.7. MARCO LEGAL DEL ASESORAMIENTO GENÉTICO

Desde los años noventa se ha incrementado la preocupación por regular la obtención y utilización de la información genética en general y la que se gestiona en el contexto clínico en particular.

En algunos países, el proceso de AG está a cargo de profesionales con formación específica en esta área mientras que, en otros países, como es el caso de España, aún no tienen programas de enseñanza y el asesoramiento es ofrecido por médicos, biólogos, químicos, farmacéuticos o bioquímicos. Este asesoramiento plantea cada vez más dilemas éticos tanto respecto a los derechos de los pacientes y familias como para los profesionales de la salud y saca a la luz la necesidad de una regulación legal al respecto.

Esta inquietud se ha reflejado en una respuesta de desarrollo legal tanto a nivel internacional, europeo y nacional (ver ilustración 10).

Evolución temporal del desarrollo legal respecto a datos genéticos

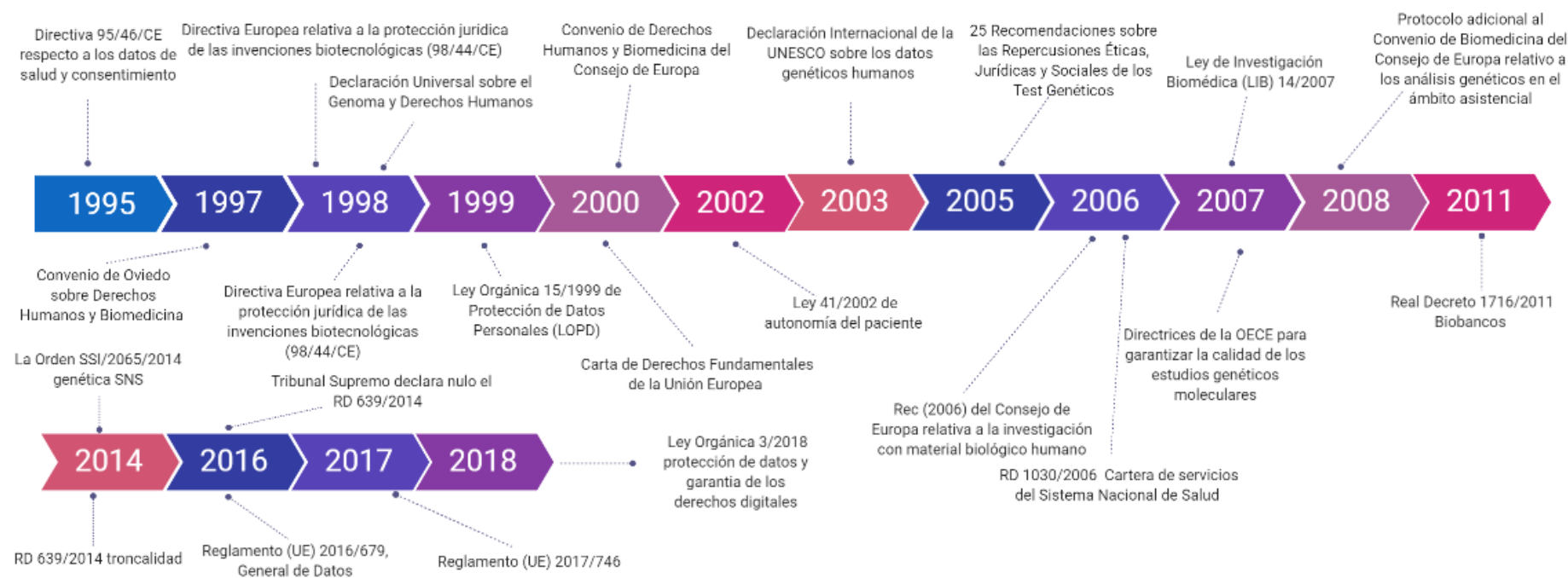


Ilustración 10. Evolución temporal del desarrollo legal respecto a datos genéticos.

1.7.1. Marco legal internacional

- En **1998 en la Declaración Universal sobre el Genoma y Derechos Humanos (78)**: se prohibía la discriminación por razones genéticas y se establecía la obligación de proteger la confidencialidad de los datos genéticos asociados a un individuo identificable.
- **Convenio de Derechos Humanos y Biomedicina del Consejo de Europa (79), en vigor en España desde el año 2000**: en sus recomendaciones relativas a genética tiene un capítulo dedicado al “Genoma Humano” donde ya se preveían limitaciones a la realización de análisis genéticos.
- En la **Declaración Internacional de la UNESCO sobre los datos genéticos humanos (80)16 octubre 2003**: destaca en su artículo cuarto la referencia que se hace precisamente a la singularidad de los datos genéticos porque:
 - pueden indicar predisposiciones genéticas de los individuos
 - pueden tener para la familia, comprendida la descendencia, y a veces para todo el grupo al que pertenezca la persona en cuestión, consecuencias importantes que se perpetúen durante generaciones
 - pueden contener información cuya relevancia no se conozca necesariamente en el momento de extraer las muestras biológica
 - pueden ser importantes desde el punto de vista cultural para las personas o los grupos.

En el artículo 11 se especifica que cuando se contemple la realización de pruebas genéticas que puedan tener consecuencias importantes para la salud debe ponerse a disposición de ésta un AG.

Esta Declaración define qué se entiende por datos genéticos, proteómicos y muestras biológicas y con qué finalidades pueden ser tratadas y conservadas. Establece el principio del CI tanto para la obtención de los datos, como para la utilización y conservación. Recuerda que los datos genéticos no pueden utilizarse para una finalidad diferente que sea incompatible con el consentimiento original, a no ser que el derecho interno disponga que la utilización propuesta responde a motivos de interés público.

1.7.2. Marco legal europeo

- **Directiva 95/46/CE(81):** en su artículo 8 respecto a los datos de salud, limita el tratamiento de datos a supuestos y finalidades concretos en los que será preciso el consentimiento, que además deberá ser expreso, del afectado o la necesidad del tratamiento con fines de asistencia sanitaria o atención de un interés vital del afectado.
- **Carta de Derechos Fundamentales de la Unión Europea año 2000** (82) y sobretodo en el **Convenio de Oviedo sobre Derechos Humanos y Biomedicina 1997** (83):
 - Se prohíbe la discriminación por razones genéticas y se establece que el acceso a esta información y su uso (médico o de investigación) precisa siempre del consentimiento del individuo.
- **Directiva Europea relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas (98/44/CE)(84):**

- Se indica qué es patentable en relación con la información genética.

➤ **Comisión europea 2005→25 Recomendaciones sobre las Repercusiones Éticas, Jurídicas y Sociales de los las pruebas Genéticas (85):**

- Autonomía, la educación, el respeto a las opciones personales, la información y el consentimiento, la protección de los grupos vulnerables, la protección de la confidencialidad, el derecho a saber y a no saber, el deber de revelar y de advertir sobre la responsabilidad, la igualdad de acceso a la asistencia sanitaria, el control de las muestras biológicas de origen humano y el control del uso de los datos en investigación, entre otros.
- Regula que tipo de pruebas predictivas se autorizan y limita su realización imponiendo dos condiciones:
 - Que las pruebas se hagan con finalidades médicas o de investigación
 - Que se lleven a cabo en el marco de un AG adecuado

De aquí podemos interpretar, como hemos comentado en el apartado de AG, que los estudios genéticos no pueden hacerse a la voluntad o capricho del profesional o del individuo, sino que deben realizarse en un ámbito profesional de AG. Entre otras cosas lo que se intenta es garantizar que el acceso a los datos que se obtengan esté vetado a terceros (compañías de seguros,...) ya que el ámbito médico funciona en el marco jurídico de protección de datos. El AG pretende

también ser la mejor forma de transmitir una información comprensible y de poder obtener un CI libre y no dirigido.

- La Recomendación **Rec (2006) del Consejo de Europa relativa a la investigación con material biológico humano**, de 15 de marzo de **2006** (86), las **directrices de la Organización para la cooperación y el desarrollo económico (OECD) para garantizar la calidad de los estudios genéticos moleculares**, de diciembre de **2007**(87) y el **Protocolo adicional al Convenio de Biomedicina del Consejo de Europa relativo a los análisis genéticos en el ámbito asistencial, de 27 de noviembre de 2008** (88) recogen las directrices en relación a los criterios de calidad para la realización de estudios genéticos moleculares.
- **Reglamento (UE) 2016/679, General de Datos** (89): que incorpora como objeto específico de protección los datos genéticos y las muestras biológicas humanas.
- **Reglamento (UE) 2017/746** (90): sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro, cuyo artículo cuatro se refiere “Información genética, asesoramiento y CI.

1.7.3. Marco legal nacional

- **Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos Personales (LOPD)**(91):

En el artículo 7.3 de esta Ley dispone que “los datos de carácter personal que hagan referencia al origen racial, a la salud y a la vida sexual, sólo podrán ser recabados, tratados y cedidos cuando por razones de interés general, así lo disponga una Ley o el afectado consienta expresamente”. Según lo establecido

en este artículo respecto al consentimiento expreso para el tratamiento de los datos de salud, el artículo 7.6 establece en su párrafo primero que “podrán ser objeto de tratamiento los datos de carácter personal de salud, cuando dicho tratamiento resulte necesario para la prevención o para el diagnóstico médico, la prestación de asistencia sanitaria o tratamientos médicos o la gestión de servicios sanitarios, siempre que dicho tratamiento de datos se realice por un profesional sanitario sujeto al secreto profesional o por otra persona sujeta asimismo a una obligación equivalente de secreto”.

La especial protección conferida a los datos de salud de las personas no es arbitraria, sino que resulta de lo dispuesto en las normas Internacionales y Comunitarias reguladoras del tratamiento automatizado de datos de carácter personal. En este contexto, el documento WP131 de la Directiva 95/46/CE recuerda una excepción:

“El tratamiento de datos personales para el propósito específico de proporcionar servicios relativos a la salud de carácter preventivo, de diagnóstico, terapéutico o de convalecencia, y a efectos de la gestión de estos servicios sanitarios.”

- **Ley 41/2002, de 14 de noviembre** (92), básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica
- **RD 1030/2006** 15 de septiembre (93): establece la cartera de servicios del Sistema Nacional de Salud contemplando dentro el AG en el ámbito de la atención especializada
- **Ley de Investigación Biomédica (LIB) 14/2007 (BOE de 4 de Julio de 2007)**(94): en España existe la LIB su objeto y ámbito de aplicación están

presididos por la investigación biomédica, siendo su objetivo principal aclarar el panorama legal en relación con una actividad de tanta trascendencia social y con implicaciones muy delicadas. Determina que toda prueba genética exige un CI del paciente, por escrito y vinculado a un AG pre y post prueba incluso aunque no se realice la prueba genética (95).

La LIB ha concretado y ha dado efectividad a los principios ya recogidos en otros textos internacionales, proyectando, y en ocasiones adaptando, algunas de las normas más generales que ya existían en nuestro ordenamiento jurídico a este marco específico. A su vez, hace alusión a la práctica totalidad de los derechos fundamentales y está dirigida no sólo a regular la investigación biomédica sino a la realización de análisis genéticos en el ámbito sanitario y el tratamiento de datos genéticos de carácter personal. Haciendo un resumen de los aspectos del proceso de AG contemplados en la ley:

- Indicación de los análisis genéticos: según lo previsto en el artículo 1.2, los análisis genéticos se realizarán para identificar el estado de afecto, o no afecto o de portador de una variante genética que pueda predisponer al desarrollo de una enfermedad específica de un individuo, o condicionar su respuesta a un tratamiento concreto.
- Aspectos sobre la información previa: los pacientes deben ser informadas por escrito de los puntos siguientes respecto a la prueba genética: finalidad, lugar de realización y destrucción, personas que tendrán acceso, descubrimientos inesperados, implicación para los familiares, así como de la obligación de suministrar AG.

- Aspectos sobre el consentimiento: deberá ser expreso y por escrito. En los casos en los que el candidato ideal para realizar el estudio inicial haya fallecido, se podrá realizar en su muestra, siempre que haya un interés sanitario y no se haya negado expresamente el afecto. En estos casos solo tendrán acceso a la información generada por la prueba los familiares biológicos, y exclusivamente en lo que afecta a este proceso. En ocasiones se podrá autorizar un estudio con el consentimiento exclusivamente verbal, pero siempre a través de los comités de ética. En cuanto a los estudios que se realicen a pre embriones in vivo, embriones y fetos, será suficiente el consentimiento de la mujer gestante.
- Derecho a la información: lógicamente, el probando tiene derecho a la información, así como a decidir qué datos de esa información desea recibir; de igual manera, en los casos que el probando haya decidido no ser informado, utilizaremos sólo la parte necesaria para su tratamiento médico, siempre y cuando lo acepte el interesado.
- Aspectos relacionados con el personal sanitario: los profesionales implicados en el tratamiento de estas personas deben disponer de toda la información necesaria para realizar una asistencia correcta.
- Confidencialidad: deber ser secreto permanente y solo se podrán revelar datos con la autorización expresa y escrita del individuo. Uno de los aspectos novedosos de esta Ley es que implica al archivo y la comunicación de los resultados de la prueba; a este respecto se refiere indicando que se hará de manera individualizada.

- Conservación de datos: se conservarán por un periodo mínimo de 5 años.
- Cribado genético: debe estar dirigido a detectar una enfermedad o riesgo grave para la salud del individuo o su descendencia, con la finalidad de tratar de forma temprana la enfermedad u ofrecer acceso a medidas preventivas. Las autoridades sanitarias determinarán y velarán por: la pertinencia del cribado genético; acceso universal y equitativo; organización y planificación; calidad de las pruebas; calidad de las prestaciones preventivas y terapéuticas. De igual manera se hace referencia a los aspectos psicosociales y al establecimiento de procedimientos apropiados para el seguimiento y la evaluación del programa. La población a la que va dirigido el cribado deberá consentir por escrito su participación. La información previa a dar el consentimiento debe ser por escrito y se referirá a características y objetivos; voluntariedad de la participación; fiabilidad de las pruebas de cribado y diagnósticas; posibilidad de falsos positivos; periodos entre pruebas; posibilidades de tratamiento y prevención; incomodidades, riesgos y acontecimientos adversos.
- AG: se debe garantizar un AG adecuado, así como realizar una prueba genética con fines sanitarios y respetando el criterio del interesado.

Los análisis genéticos, el tratamiento de las muestras biológicas y los biobancos forman parte del bloque más novedoso de la ley. Con ello la ley establece:

- Regulación de los análisis genéticos con fines de investigación y con fines diagnósticos (clínicos), siendo lógicamente los requisitos de los primeros más estrictos y detallados.

- Las muestras biológicas se regulan de modo que el sujeto fuente pueda recibir toda la información sobre lo que puede acontecer con esas muestras y prestar su consentimiento en el destino o destinos sucesivos de las mismas. Este tratamiento legal del material biológico pretende garantizar los derechos de las personas de una forma que sea compatible la investigación con aquel. Por otro lado, se aporta una solución a las muestras que existían en los centros sanitarios, para darles una salida en el mundo de la investigación.
- Los biobancos se distinguen de las colecciones de muestras y de las muestras de uso privado. Deberán satisfacer un conjunto de requisitos relativos a la salvaguarda de los derechos del sujeto fuente, por un lado, y a los fines de investigación, por otro (calidad de la muestra, exigiendo su trazabilidad, su gratuidad, etc.).

La ley de investigación Biomédica introdujo novedades respecto a la regulación española de los comités éticos, dicha regulación nos ayuda a “Disponer del marco normativo adecuado que dé respuesta a los nuevos retos científicos al mismo tiempo que garantice la protección de los derechos de las personas que pudiesen resultar afectados por la acción investigadora” según se cita en el preámbulo de dicha ley (11). Los comités éticos dan la confianza que la población demanda ante el desconocimiento de los riesgos y las consecuencias que conllevan los avances científicos en relación con sus derechos fundamentales. Así como median para la resolución de determinados conflictos éticos tanto en el ámbito asistencial como investigador.

Existen diversas divergencias ideológicas en relación con determinados aspectos tratados en la ley como la inclusión de los análisis genéticos con fines diagnósticos de carácter asistencial, al entender algunos que es competencia propia de las Comunidades Autónomas, lo que representaría una invasión en tales competencias. Pero lo cierto es que esta ley vino a poner solución a un vacío legal existente, especialmente a los análisis genéticos en el ámbito de la investigación, necesitados con urgencia del respaldo de una normativa legal.

- **Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre** (96), por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula el funcionamiento y organización del Registro Nacional de Biobancos para investigación biomédica
- **La Orden SSI/2065/2014, de 31 de octubre** (97), por la que se modifican los anexos I, II y III del Real Decreto 1030/2006, de 15 de septiembre, por el que se establece la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y el procedimiento para su actualización, prevé la atención a los pacientes y familiares en el área de genética en el Sistema Nacional de Salud
- Se ha publicado el **RD 639/2014** (98) por el que se regula la troncalidad la especialización troncal y las áreas de capacitación específica, se establecen las normas aplicables a las pruebas anuales de acceso y plazas de formación y otros aspectos del sistema de formación sanitaria especializada en Ciencias de la Salud y se crean y modifican

determinados títulos de especialista. Con ello se pretende comenzar la regularización legal de la actual situación de la especialidad en España y suplir la carencia del marco normativo sobre la formación de las habilidades y competencias de este especialista, integrándola como una nueva especialidad de “Genética clínica” de carácter multidisciplinar e integrada en el tronco de Laboratorio y Diagnóstico Clínico como parte de las plazas ofertadas por las pruebas anuales de acceso a la Formación Sanitaria Especializada.

- **El 20 de Diciembre de 2016 el Tribunal Supremo declara nulo el RD 639/2014** (99) por el que se regula la troncalidad la re especialización troncal y las áreas de capacitación específica. Por considerarse insuficiente la memoria de impacto económico.
- **Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre** (100): de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales: ha concretado las previsiones del reglamento general de protección de datos en relación con el tratamiento de datos con fines de investigación científica.

Tabla 18. Implicaciones médicas, éticas, legales y sociales de la introducción de la secuenciación genómica en los sistemas de salud.

Implicaciones médicas	Implicaciones éticas
Incrementa la efectividad	Cambio en el concepto salud-enfermedad (predicción)
Resultados surrogados (tecnologías diagnósticas)	Conocimiento suficiente que justifique la secuenciación
Oportunidad para medidas preventivas	poblacional
Necesidad de combinación	Propiedad de la información (no solo genómica)
- Clínica	Conocimiento y rol de los pacientes
- Medioambiental	Dignidad humana. Estigmatización y discriminación
- Genómica	Accesibilidad
	Integridad humana, convicciones morales, preferencias y deberes, incluido el derecho a no ser analizado

Implicaciones legales	Implicaciones sociales
Autonomía de los pacientes	Empoderamiento y autonomía de pacientes y familiares
Credibilidad legal	Estigmatización de algunas subpoblaciones de acuerdo con sus datos clínicos, estilos de vida y genéticos
Protección de la información generada	La tecnología actual permite la internacionalización de los datos
Guías éticas profesionales	Políticas para promover la implementación de servicios de salud personalizados
Falta de armonización de sistemas y regulaciones	Incorporar a personas y grupos, apoyo requerido y costes incurridos
Barreras legales relacionadas con las políticas de reembolso y precios	Análisis de opiniones (cualitativa y cuantitativa)
Marketing	
Armonización de los servicios	
Conceptos erróneos y falsas expectativas	
Prácticas ilegales	

1.8. EL CONSENTIMIENTO INFORMADO

Es un medio que garantiza el libre acceso a las pruebas médicas y proporciona la información necesaria sobre ellas, así como sobre las implicaciones de los resultados.

Las pruebas genéticas de laboratorio tienen características únicas, y los resultados de las pruebas del genoma germinal tienen consecuencias no solo para el paciente sino también para sus familiares. Estas características entre otras son las que apoyan la necesidad del CI (101).

La toma del CI se puede dar en dos ámbitos distintos. En su vertiente asistencial e investigadora. En la primera el CI escrito y firmado por el paciente se toma antes de la realización de determinadas intervenciones sanitarias que, a pesar de comportar beneficios, puede conllevar riesgos potenciales o resultados inciertos.

En su papel en la investigación, el CI es un paso imprescindible y garantiza que la persona participante ha recibido toda la información sobre el procedimiento a realizar, así como de los beneficios y riesgos derivados. Es importante mencionar que la declaración de Helsinki (102), como guía ética para la investigación médica en seres humanos, acentúa el hecho de que el bienestar de los participantes debe prevalecer sobre cualquier otro tipo de interés ya sea colectivo, social o científico.

En un momento en que todo tipo de información está disponible instantáneamente a través de Internet, la protección de los datos genéticos, en particular, plantea nuevos problemas con respecto a la naturaleza, los medios, el estado y el uso de estos datos. A la vanguardia de estos problemas está el modelo de CI, que no ha sido modificado, a pesar de los muchos avances tecnológicos. La tendencia es hacia un CI dinámico y enriquecido que se adapta a una medicina personalizada (103).

Las pruebas genéticas se deben realizar bajo CI por escrito. La prueba debe haber demostrado previamente su validez analítica y utilidad clínica cuando se realiza dentro de un proceso asistencial. Sin embargo, estas propiedades pueden ser el objeto de estudio cuando se realiza en un proyecto de investigación. Además, en ambos casos las muestras pueden ser destruidas

al final del estudio o almacenadas para un uso posterior. Estos aspectos deben reflejarse en el CI atendiendo a cada caso.

1.8.1. Ámbito asistencial

El CI para la realización de pruebas genéticas en el ámbito asistencial debe ser recoger la siguiente información: finalidad del análisis, lugar de realización, destino final de la muestra, personal con acceso a los resultados; posibilidad y trascendencia de hallazgos fortuitos, y determinar de antemano si se desea recibir su comunicación; implicación familiar de la información y, por tanto, la conveniencia de transmitirla.

El CI se puede obtener de los padres o representantes legales en el caso de personas incapaces, como en menores o personas con capacidades disminuidas, aunque deben estar implicadas de acuerdo a sus posibilidades en el proceso de decisión. Si fuese necesario realizar el estudio en muestras de personas fallecidas para complementar la información sobre un familiar vivo, el CI lo pueden proporcionar los padres, hijos o representantes legales. Además, si se desean conservar las muestras para un futuro uso en investigación es necesario firmar un CI adicional que contenga: líneas generales de investigación; lugar de realización de la investigación; lugar de almacenamiento y en qué colección; la necesidad de aprobación previa del Comité de Ética de Investigación (104) para disponer de las muestras; codificación de muestras; datos personales confidenciales; derecho de obtener información de las muestras; derecho a revocar el consentimiento en cualquier momento y sin explicaciones; es una cesión gratuita y altruista; decidir si se comunican los resultados de la investigación si se obtuviese algún

beneficio para la salud del paciente o de los familiares; que la no participación no repercuta negativamente en el cuidado asistencial.

1.8.2. Ámbito de investigación

El CI para realizar un proyecto de investigación, independientemente de si incluye alguna prueba genética o no, debe incluir los siguientes aspectos: naturaleza y objetivos del estudio; naturaleza voluntaria de la participación; riesgos y molestias derivadas; posibles beneficios para la sociedad; información de contacto; confidencialidad de los registros; derecho de revocación; derecho a recibir cuidados sanitarios; decidir si se desea recibir o no información concerniente de los resultados; lugar de realización; destino final de la muestra; información sobre el personal con acceso a los resultados; garantía por el Comité de Ética; uso o no comercial de los resultados. Si además el proyecto conlleva una prueba genética, se deberá añadir el derecho a recibir AG e información sobre los hallazgos fortuitos y su manejo.

Por otro lado, en este ámbito es de mayor frecuencia el uso de estrategias de amplio alcance de NGS. En este contexto, los principales desafíos para obtener el consentimiento están relacionados con la incertidumbre de los resultados, y las expectativas poco realistas de los pacientes sobre el número probable y la utilidad de los resultados (105).

1.8.3. Aspectos psicosociales

El proceso de AG, puede suponer una importante fuente de estrés, independientemente de la realización de la prueba molecular; además, confluyen en estas familias, las problemáticas derivadas de dos entidades causantes de estrés muy importantes, como son la patología genética

detectada y el carácter de herencia, transmisión a la descendencia. Por ello, es de vital importancia tener presentes los aspectos psicosociales, en el abordaje de la enfermedad genética. Una evaluación psicológica previa a la realización de la prueba genética es muy recomendable de manera que se pueda evaluar la capacidad de la persona de recibir los distintos posibles resultados que derivan de la prueba (106).

El equipo que proporciona el AG debe conocer las variables psicológicas y emocionales implicadas en el proceso, para que el AG sea efectivo, se comprenda adecuadamente la información y se optimice la calidad de vida del participante y la familia. También deben detectarse las posibles dificultades de adaptación de los pacientes, e intervenir en caso de ser necesario.

Tanto el proceso de AG como el resultado de la prueba van a provocar una serie de reacciones emocionales. En este contexto se hace necesario tratar:

- El manejo del estrés y la ansiedad que se relaciona directamente con la comprensión de la información, la toma de decisiones, la percepción del riesgo y la adherencia a las estrategias de prevención.
- La discusión acerca de la comunicación familiar. La responsabilidad de transmitir a otros miembros de la familia la posibilidad de tener un riesgo incrementado de padecer la enfermedad genética.
- La culpa que pudiere significar ser transmisor a sus hijos de una variante genética que incrementa la probabilidad de enfermar.

Los efectos del proceso de AG sobre la salud mental han sido ampliamente estudiados con pocas variaciones entre las distintas unidades de AG mostrando que puede ser beneficioso, sin que induzca o aumente la

patología psicosocial. El AG mejora el conocimiento de la enfermedad, sin perjudicar emocionalmente respecto a la situación previa del perfil psicológico del paciente, el cual en un inicio es comparable al de la población general a pesar del contexto familiar en el que se desarrolla y si no padece ningún desequilibrio diagnosticado previamente. A su vez, permite disminuir la ansiedad y el nivel de estrés general y no produce efectos negativos en la calidad de vida de los pacientes. Sin embargo, aproximadamente un cuarto de los pacientes presenta mayores niveles de angustia durante y/o después del proceso de AG.

En algunos estudios se han desarrollado cuestionarios sobre los aspectos psicosociales que han resultado ser herramientas útiles para la identificación de problemas de este contexto. En ellos los principales aspectos psicosociales reportados fueron:

- Relacionados con vivir con la enfermedad genética.
- Predisposición hereditaria.
- La familia y las cuestiones sociales.
- Los problemas relacionados con la posibilidad de transmisión a la descendencia y la decisión de tener hijos así como, de las acciones dirigidas a evitar la transmisión, diagnóstico prenatal y preimplantacional.

La comunicación del resultado genético es otra fase del proceso de AG que puede influir notablemente en el estado del paciente y su entorno. Algunos de los aspectos psicosociales esperados son:

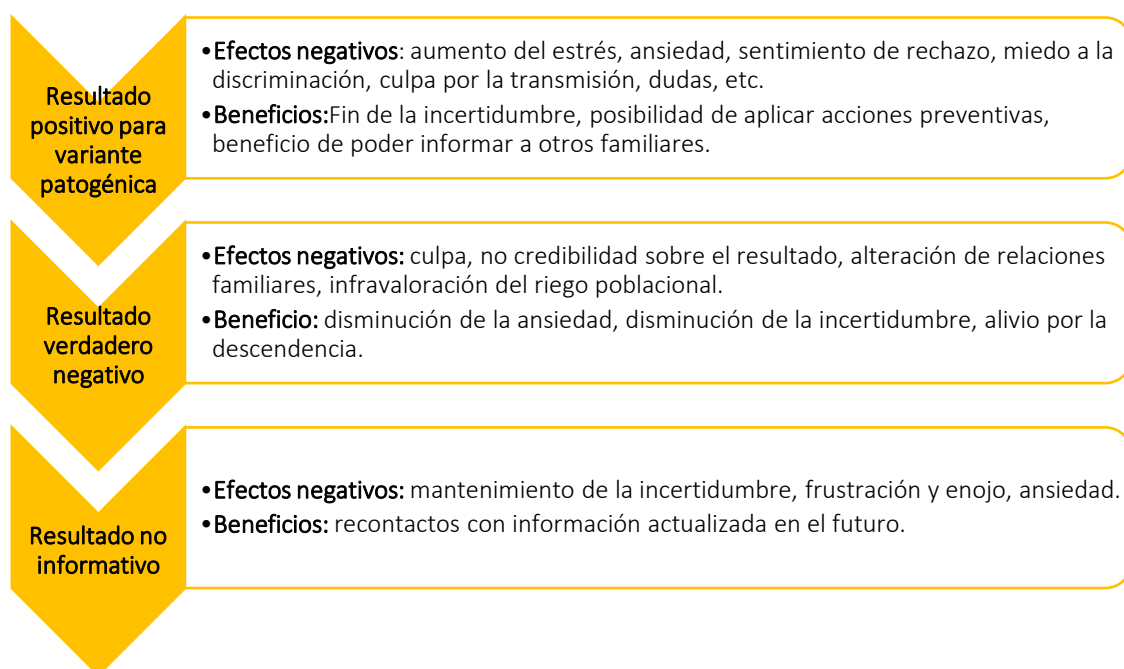


Ilustración 11 Aspectos psicosociales según el resultado de la prueba genética.

Es importante detectar estos problemas y analizarlos durante el proceso de AG orientándolo a disminuir la sensación de angustia del paciente y aclarar cualquier duda para que no influyan negativamente en la toma de decisiones terapéuticas y preventivas.

Además, surge la necesidad de modificar el formato de CI donde se incluya y se dé a conocer al paciente la posibilidad de obtener “hallazgos incidentales” ante los cuales puede ejercer su derecho a saber o no saber. Así como especificar si en un futuro y con más conocimientos sobre las alteraciones genómicas, desearía o no ser re contactado para transmitirle la información actualizada a los conocimientos científicos del momento.

Para un CI de análisis de genoma completo:

- Hay que recordar que un CI es un proceso.
- Un CI de un estudio de secuenciación genómica debe contemplar que el paciente conozca que se trata de un análisis de todo su

genoma y no de un estudio dirigido a un gen o a una enfermedad determinada.

- Se debe de establecer a priori, de forma genérica, qué tipo de información va a recibir el paciente al final del estudio.

II. JUSTIFICACIÓN

Teniendo en cuenta la actualidad científica revisada y la importancia de los aspectos éticos y legales en su relación con los procesos que implican la mejora de la salud humana, el avance en las técnicas de análisis genéticos en los últimos años y la controversia ético legal de la disciplina de genética en nuestro país, se plantean las siguientes preguntas con nuestra población atendida:

¿Qué ocurre con nuestras pacientes atendidas en la consulta de cáncer familiar?

¿Cómo podemos mejorar el proceso de AG tras el avance tecnológico e informático y sin disponer aún de una regularización de la especialidad de genética en nuestro país?

Y con dicha inquietud exponemos las causas que motivan esta investigación y la finalidad que se persigue:

¿Por qué?

- ✓ La importancia de los aspectos éticos y legales en su relación con los procesos que implican la mejora de la salud humana.
- ✓ Los antecedentes que evidencian la controversia ético legal de la disciplina de genética en nuestro país.
- ✓ El avance en las técnicas de análisis genéticos en los últimos años.

¿Para qué?

- ✓ Mejorar el proceso de AG.
- ✓ Potenciar la medicina personalizada.
- ✓ Reflexionar desde el punto de vista ético-legal los límites entre la investigación y la asistencia sanitaria.
- ✓ Contribuir a la elaboración de recomendaciones clínicas para la comunicación de resultados de estudios genéticos de NGS.

III. HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

Alternativa

El estudio de variantes genéticas en *BRCA1* y *BRCA2* y la presencia de determinados SNP para pacientes de alto riesgo clínico y resultado negativo para variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2*, permiten reclasificar el riesgo individual de la paciente y las estrategias de prevención familiar que se ofrecen en las unidades de cáncer familiar de manera que conlleva determinados riesgos desde el punto de vista ético legal.

Nula

El estudio de variantes en genes *BRCA1* y *BRCA2* y la presencia de determinados SNP no reclasifica el riesgo individual ni las estrategias de prevención familiares de las pacientes con criterios de alto riesgo clínicos y estudio negativo para variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2* y no conlleva riesgos desde el punto de vista ético legal.

IV. OBJETIVOS

Los objetivos de investigación que se propone alcanzar en esta tesis doctoral son:

Primarios:

- ✓ Estudiar la presencia de variantes genéticas en genes *BRCAX* en un grupo de pacientes afectas de cáncer de mama y clasificadas como alto riesgo de predisposición hereditaria.
- ✓ Determinar los problemas éticos y legales que plantea la información de resultados obtenidos con las nuevas tecnologías en la consulta de AG sobre cáncer familiar

Secundarios:

- ✓ Describir las características epidemiológicas de las familias con riesgo de síndrome de predisposición hereditaria a cáncer de mama atendidas en la consulta de AG del HULPR en la Comunidad de Madrid.
- ✓ Describir y clasificar las variantes genéticas detectadas en los estudios genéticos de *BRCA1* y *BRCA2*.
- ✓ Describir, analizar y clasificar las variantes genéticas detectadas en el panel multigénico realizado por NGS.
- ✓ Buscar si existe asociación entre las variables descriptivas y las variantes patogénicas y claramente patogénicas detectadas en genes *BRCA1/BRCA2* Y *BRCAX*.
- ✓ Valorar la influencia de los SNP detectados en el riesgo pre test de cáncer de mama en la muestra estudiada.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se ha realizado en el HULPR en colaboración con la Unidad de Cáncer Familiar y el laboratorio de Biología Molecular.

La metodología de trabajo para la elaboración de la tesis doctoral se dividió en 5 pasos (ver ilustración 12):

En primer lugar, se recogieron los datos (2006-2017) de la población de estudio y se codificaron las variables.

Posteriormente se analizó el proceso de AG en nuestro centro describiéndolo mediante mapas de procesos y de soporte.

Se procedió a realizar una revisión bibliográfica del tema de estudio y de los aspectos éticos y legales envueltos en el proceso de AG así como de la metodología de análisis por NGS.

Para la fase experimental se seleccionó la muestra de estudio y se solicitó una beca que nos permitió analizar otros genes *BRCA*. Se seleccionó el panel de genes que más se ajustaba a los genes candidatos de estudio y se incluyeron una serie de SNP relacionados con el cáncer que nos permitieran llevar a cabo el estudio de la influencia de estos en el riesgo a desarrollar cáncer. Una vez realizado el experimento se procedió al análisis bioinformático y a la interpretación de resultados.

Finalmente, se procedió a la discusión de los resultados con evidencia científica actual, así como se procedió a la escritura de la tesis doctoral.



Ilustración 12. Organigrama de trabajo para la elaboración de la tesis doctoral.

5.1. Población de referencia

El HULPR ofrece asistencia a la población perteneciente al Área Sanitaria 2 de la Comunidad Autónoma de Madrid, estimada en unas 500.000 personas. La franja de edad de los pacientes de mayor frecuencia que acuden a este hospital es la de 16 a 64 años (107).

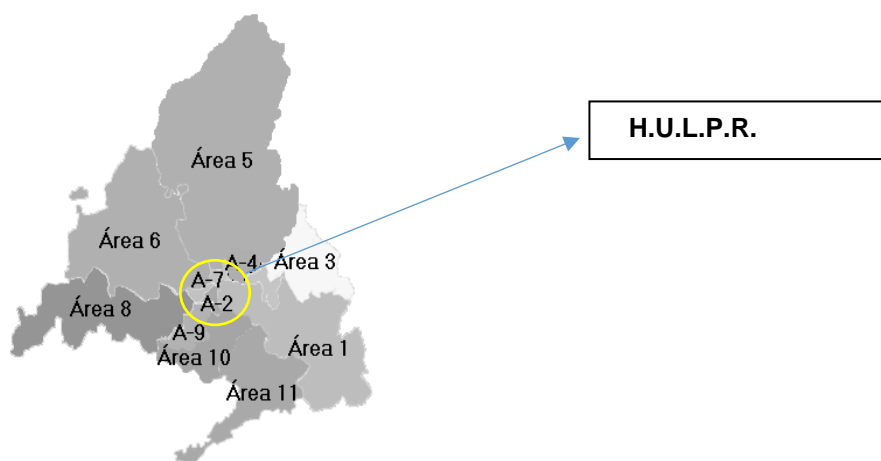


Ilustración 13. Mapa sanitario de la Comunidad de Madrid.

5.2. Estructura de la Unidad de Cáncer Familiar del HULPR:

El abordaje de los pacientes con cáncer en nuestro hospital es multidisciplinar.

5.3. Descripción de los procesos de la Unidad de Cáncer Familiar

Los pacientes incluidos en nuestra investigación son captados mediante los procedimientos de derivación a la unidad de cáncer familiar y a partir de la cual se procede a la atención en la consulta de cáncer familiar.

A continuación, se explica el proceso de captación de los pacientes:

El paciente que cumple criterios clínicos de riesgo para cáncer de mama es derivado desde atención primaria (AP) o atención especializada (AE) a la consulta de cáncer familiar. Desde ahí se procede a realizar el AG pertinente con el análisis de riesgos así como el estudio familiar y en según la clasificación de riesgo clínico del paciente se procede en caso de riesgo bajo a remitir al paciente con informe explicativo al médico solicitante, en caso de riesgo moderado se realiza un informe médico en el que se incluyen las medidas de detección precoz y de seguimiento y en caso de riesgo alto se realiza una valoración psicológica, asesoramiento genético pretest, indicación de estudio genético germinal y firma del CI. En este último caso y se deriva a la sala de extracciones donde se obtiene la muestra que será preparada para la obtención de DNA genómico (proceso que se realiza en el laboratorio de biología molecular) y envío al Laboratorio de Oncología Molecular del Hospital Clínico San Carlos para la realización de las pruebas genéticas (*BRCA1* y *BRCA2*). Una vez recibidos los resultados, la genetista clínica o coordinadora de la unidad realiza una consulta de revisión para el

asesoramiento post test y se procede a la integración de dicha información en la historia clínica del paciente. En caso de detectarse alguna variante patogénica o probablemente patogénica el seguimiento en individuos sanos se realiza desde la consulta de genética clínica, mientras que si se detecta en pacientes oncológicos se realiza en la consulta de Oncología Médica o Ginecológica. Dichos procesos se reflejan gráficamente en las ilustraciones 14, 15 y 16.

Por otro lado, el análisis de los procesos en los que existen riesgos que puedan comprometer la seguridad del paciente y la calidad en la asistencia es de vital importancia en todo proceso que quiera cumplir las exigencias de calidad que dictan las normas de laboratorio clínico UNE EN ISO 15189. Para ello se han identificado los puntos de riesgo elaborando los procesos de soporte de la fase pre analítica y pos analítica del circuito de funcionamiento de la Unidad de Cáncer Familiar anteriormente expuesto.

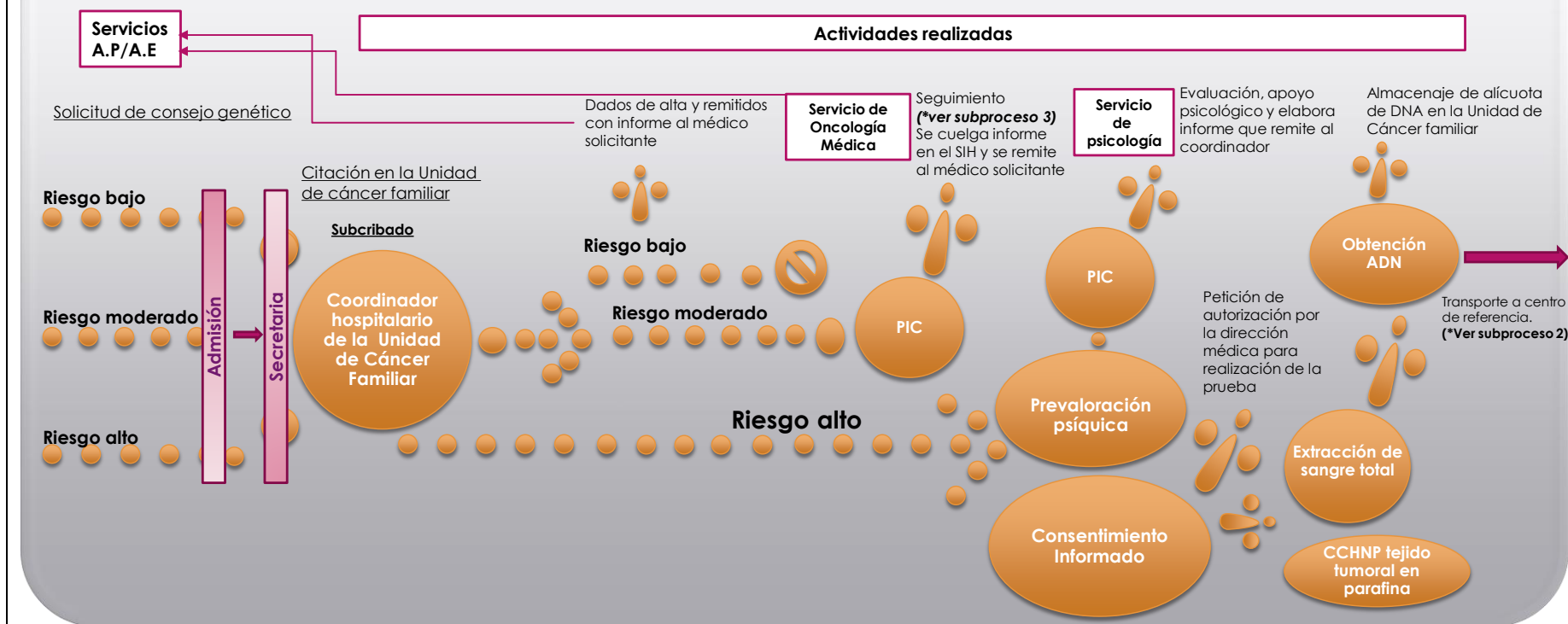
La trazabilidad y exigencias de calidad de la fase analítica quedan a cargo del centro encargado del análisis genético. Dichas exigencias en todo momento pueden ser solicitadas por el coordinador de la unidad. Se puede visualizar el proceso de soporte en las ilustraciones 17, 18 y 19.

1

PROCESOS DE LA UNIDAD DE CÁNCER FAMILIAR

FASE PREANALÍTICA

Subproceso1: CRIBADO



Hospital universitario de la Princesa. 2006.

Ilustración 14. Procesos de la Unidad de Cáncer Familiar 2006. Fase pre analítica.

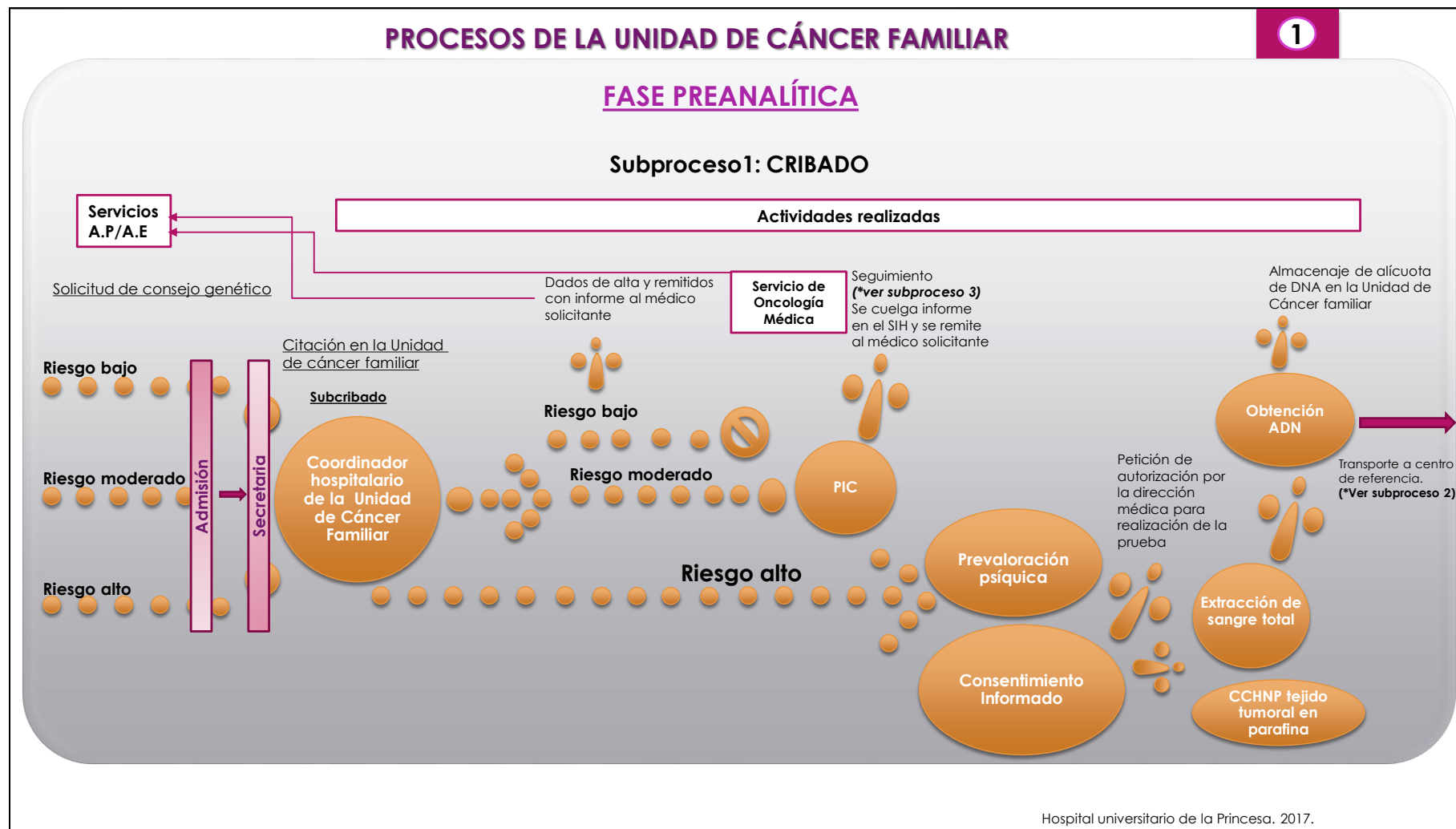


Ilustración 15. Procesos de la Unidad de Cáncer Familiar 2017. Fase pre analítica.

PROCESOS DE LA UNIDAD DE CÁNCER FAMILIAR

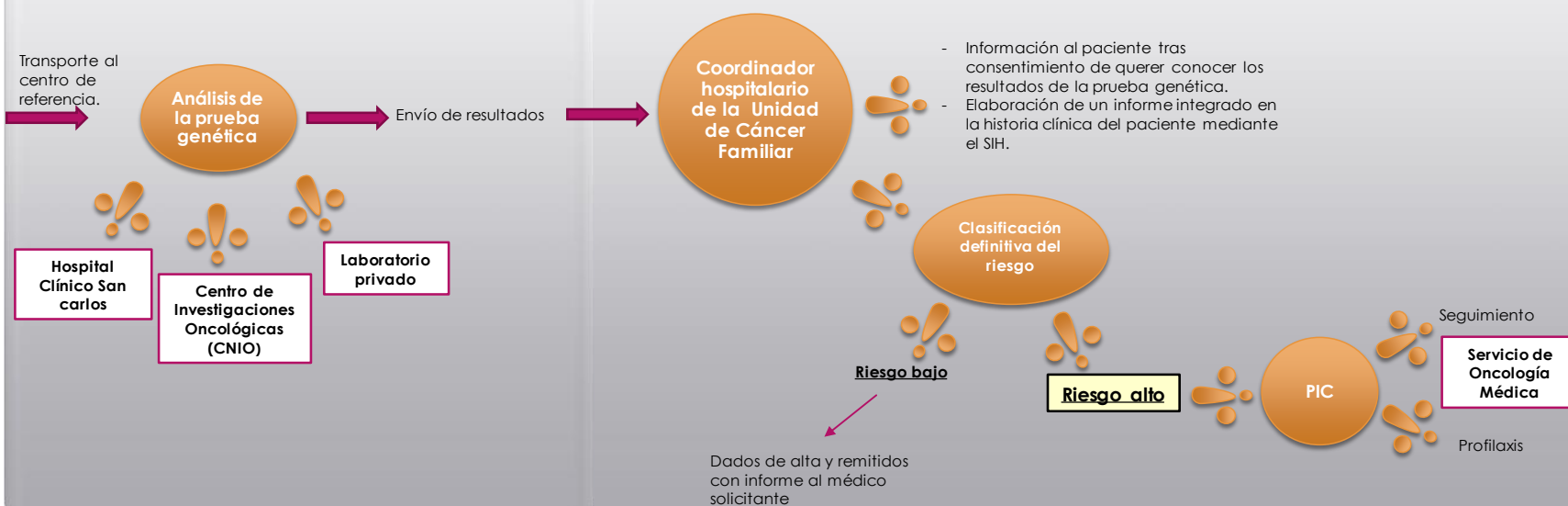
FASE ANALÍTICA

Subproceso2: DIAGNÓSTICO

FASE POSTANALÍTICA

Subproceso3: TERAPÉUTICA

Actividades realizadas



Hospital universitario de la Princesa

Ilustración 16. Procesos de la Unidad de Cáncer Familiar. Fase analítica y pos analítica.

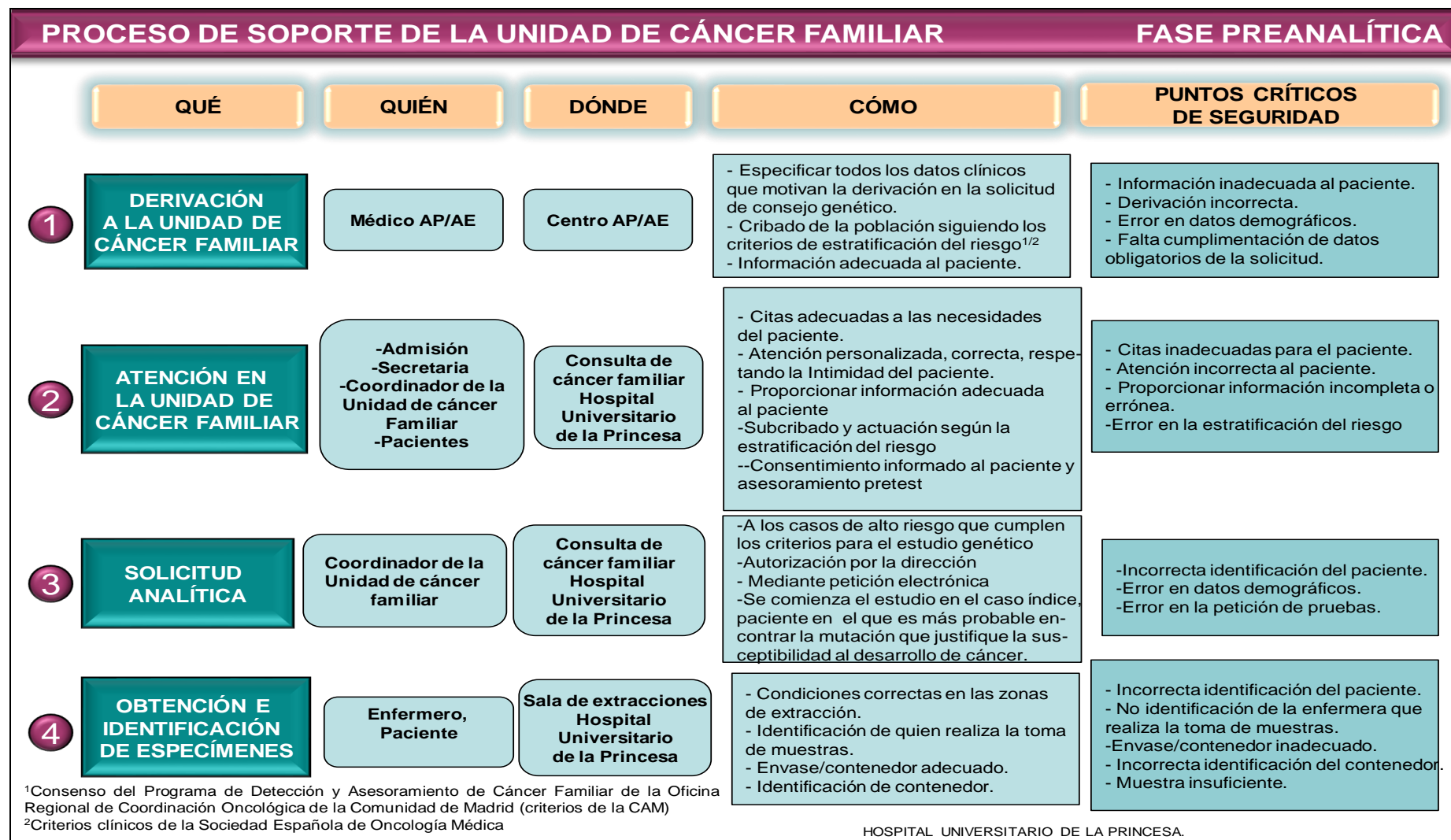


Ilustración 17. Proceso de soporte de la UCF. Fase pre analítica.

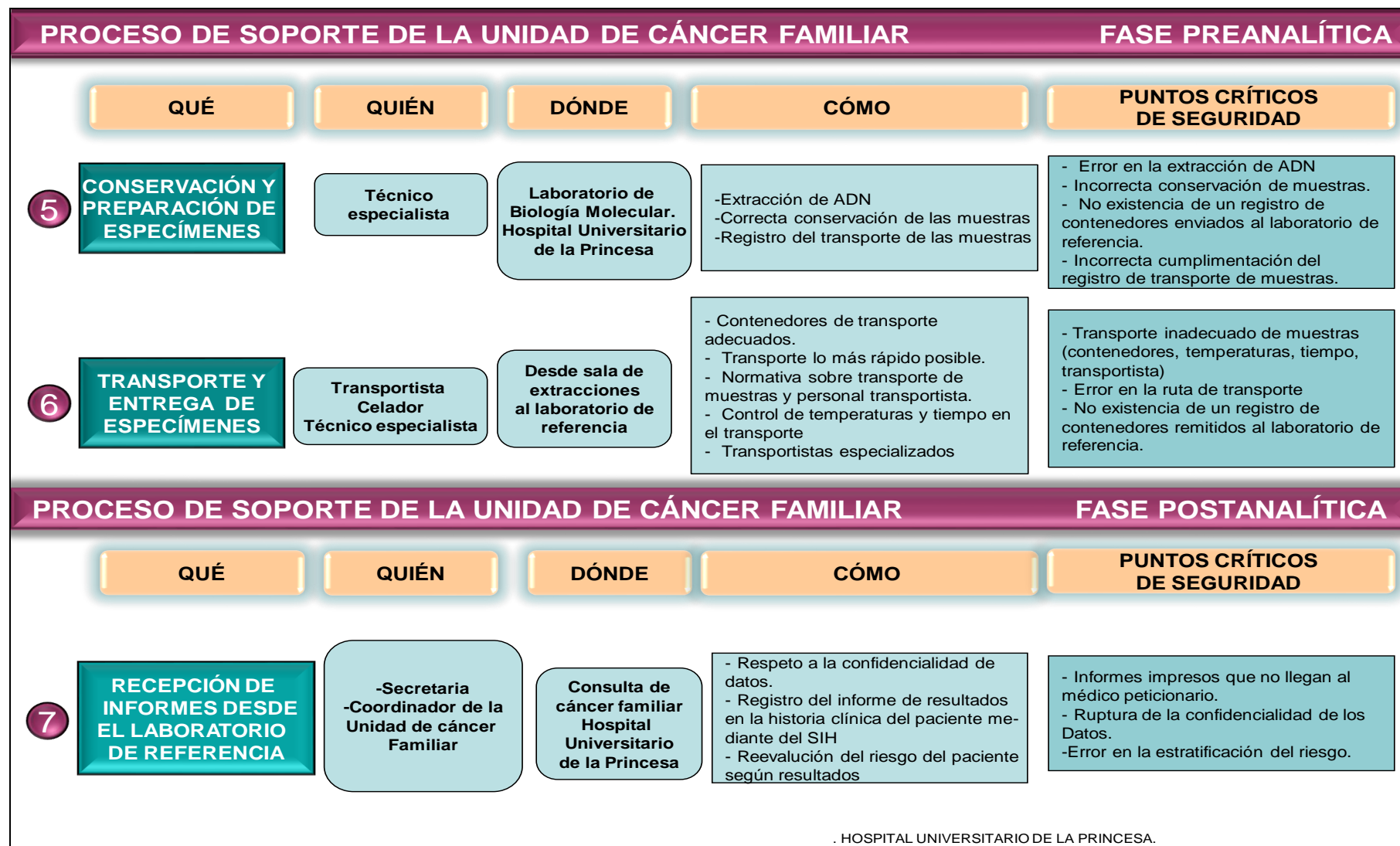


Ilustración 18. Proceso de soporte de la UCF. Continuación fase pre y comienzo fase pos analítica.

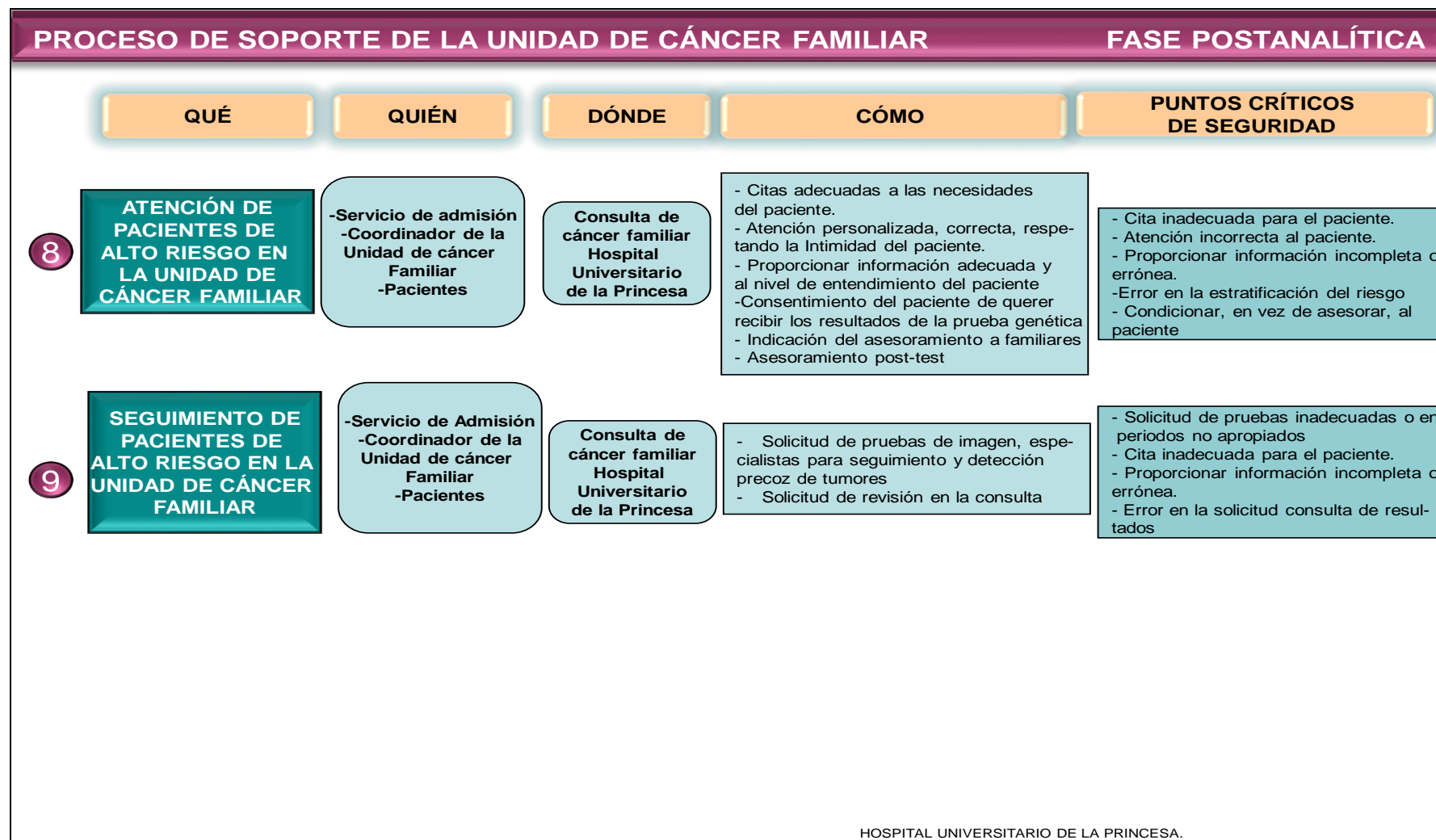


Ilustración 19. Proceso de Soporte de la UCF. Fase pos analítica continuación.

5.4. Diseño y población de estudio

La población de estudio se compone de 1059 pacientes que son remitidos y atendidos en la consulta de cáncer familiar del HULPR por sospecha de cáncer de mama y ovario hereditario desde 2006-2017.

Realizamos tres diseños de estudio que integran el cuerpo de esta tesis doctoral:

1. Estudio de revisión bibliográfica:

Se realiza con el objeto de hacer una búsqueda de la actualidad de los aspectos éticos y legales que envuelven al proceso de AG.

Para la búsqueda se usaron como palabras claves tanto “Consejo” como “Asesoramiento” puesto que vienen usándose ambas indistintamente para especificar el proceso de atención médica en cuestiones de enfermedades genéticas, pese a que en la actualidad es más correcto el término “Asesoramiento” por transmitir la capacidad de informar al paciente sin recomendar ni dirigir su elección respetando el principio de autonomía.

Para ello, se utilizan los criterios de búsqueda que se muestran en la tabla 19. Los portales de búsqueda utilizados han sido: PUBMED, Up-to-date, Google académico, Índice Médico Español (IME), iSEEK Medical. Como gestor de referencias bibliográficas se ha utilizado Mendeley.

Tabla 19. Criterios de búsqueda de la revisión bibliográfica.

Criterios de Búsqueda sumatorios				
Criterios de búsqueda excluyentes	<u>Aspectos éticos</u>	<u>Aspectos legales</u>	<u>Asesoramiento</u>	<u>Enfermedad genética</u>
	Conflicto de interés	Médicos legales	Consejo/Asesoramiento genético	Pruebas genéticas/Test genéticos
	Ética médica	Responsabilidad legal	Comunicación paciente	Resultados de NGS
	Confidencialidad		Estimación del riesgo	Cáncer hereditario
	Consentimiento informado		Información al paciente	Cáncer familiar

2. Estudio observacional descriptivo de carácter prospectivo y transversal:

Se han ido recogiendo desde el 2006 al 2017, según se atendían en consulta las pacientes, las siguientes variables descriptivas codificadas y cuantitativas tal y como se muestra en las tablas 20 y 21.

Tabla 20. Codificación de variables categóricas.

Variables descriptivas categóricas

<u>Sexo</u>	<u>Procedencia</u>	<u>Lactancia</u>	<u>Menopausia</u>
Hombre=0	AP=1	No=0	No=0
Mujer=1	AE=2	Si=1	Si=1

<u>Anticonceptivos</u>	<u>Tratamiento</u> <u>hormonal</u>	<u>Riesgo clínico</u> <u>pre test</u>	<u>Receptores</u> <u>Estrogénicos</u>
No=0 Si=1	No=0 Si=1	Alto=1 Moderado=2 Bajo=3	Negativos=1 Positivos=2 No valorable=3 Desconocido=4
<u>Receptores</u> <u>Progesterona</u>	<u>Receptores</u> <u>C-erb2</u>	<u>Morfología</u>	
Negativos=1 Positivos=2 No valorable=3 Desconocido=4	Negativos=1 Positivos=2 No valorable=3 Desconocido=4	Sano=0 Mama Ductal=1 Mama Medular=2 Mama Lobulillar=3 Otros=4	Ovario=5 Próstata=9 Mama papilar=12 Ductal+lobulillar=18 Ductal+mucinoso=19 Ductal+colon=20
<u>Infiltrante</u>	<u>Localización</u>	<u>Criterio clínico</u>	
No=0 Si=1 Desconocido=3	Unilateral=1 Bilateral=2 Ovario=3 Otros=4 Sana=5 Uni+Ovario=7 Bi+Ovario=8	CM<35=1 CMbilat<40=2 CM triple neg<50=3 2 CM<50=4 CO+CM<50=5 Mujer CM y CO=6 2 CM+CO=7	3 CM=8 2 CO cualquier edad=9 CM en el varón + CM/CO=10 CO epitelial no mucinoso alto grado=20
<u>Nº de casos</u> <u>afectos en la</u> <u>familia</u>	<u>Cirugía profiláctica</u>	<u>Caso</u>	<u>BRCA</u>

Un caso=1 Dos casos=2 Tres casos=3 Familia no informativa=5	No=0 Mastectomía=1 Ooforectomía=2 Ambas=3	Familiar=1 Índice=2	<i>BRCA1</i> variante patogénica=1 <i>BRCA2</i> variante patogénica=2 <i>BRCAX</i> =3
<u>Variantes patogénicas</u>		<u>VSD</u>	
No=0 <i>BRCA1</i> =1 <i>BRCA2</i> =2 <i>BRCA1-2</i> =3	Otras=4 <i>BRCA1</i> +otras=5 Rechaza estudio o éxitus=6	No=0 <i>BRCA1</i> =1 <i>BRCA2</i> =2 <i>BRCA1-2</i> =3 Otras=4	

Tabla 21. Variables demográficas cuantitativas.

Variables demográficas cuantitativas

Edad en el momento de la consulta	Edad de diagnóstico	Número de hijos nacidos vivos	Edad primer parto
--------------------------------------	------------------------	----------------------------------	----------------------

3. Estudio experimental:

Para el estudio de variantes en *BRCAX* se ha seleccionado una muestra de 47 pacientes, todas ellas casos índices afectos de cáncer de mama, que cumplen criterios clínicos de alto riesgo de cáncer de mama hereditario y han resultado negativos para variantes patogénicas o probablemente patogénicas en *BRCA1/2* (ver ilustración 20). La selección de las pacientes fue aleatoria, pero con representación similar entre menores o iguales a 50 años (27) y mayores (20).

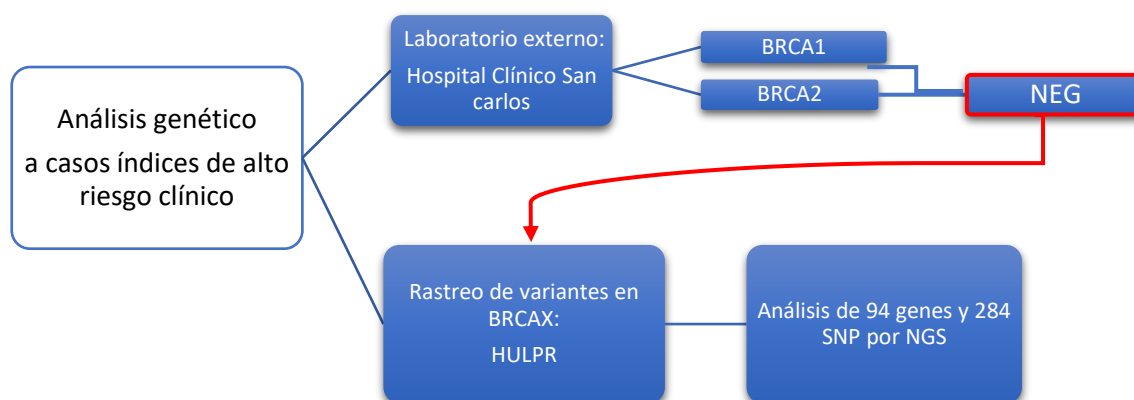


Ilustración 20. Organización para la realización de los análisis genéticos.

La organización y la metodología de trabajo de la fase experimental se observan gráficamente en el siguiente organigrama de trabajo y se explica detalladamente a continuación (ver ilustración 21 y apartado [5.11](#)).



Ilustración 21. Organigrama de trabajo de la fase experimental.

5.5. Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión para el estudio descriptivo son haber sido valorados en la consulta de cáncer familiar de nuestro hospital y cumplir criterios clínicos de riesgo de cáncer de mama y ovario hereditario.

Para el estudio experimental los criterios de inclusión fueron; pacientes diagnosticadas de cáncer de mama, haber sido atendidas en la consulta de cáncer familiar, ser casos índices y cumplir criterios clínicos de alto riesgo y no haber detectado variantes patogénicas o probablemente patogénicas en el estudio genético de *BRCA1* y *BRCA2* (realizado en el laboratorio de Oncología Molecular del Hospital Clínico San Carlos).

Se excluyeron del estudio experimental aquellas pacientes que no autorizaron el estudio mediante el CI.

5.6. Consentimiento informado y aprobación del comité ético

Todas las pacientes de alto riesgo firmaron un CI de uso clínico para la realización del estudio genético y sobre el deseo de saber los resultados del estudio, así como sobre la participación en estudios de investigación.

Para el estudio experimental se elaboró una hoja de información al paciente, así como un CI específico del estudio de investigación y se obtuvo la aprobación del Comité Ético (ver en [Anexo I](#)).

5.7. Obtención de las muestras

Los criterios seguidos para la indicación de realización del estudio genético son los criterios clínicos de alto riesgo anteriormente descritos.

Para la obtención de la muestra y previo CI firmado por escrito, se realizó una venopunción en la sala de extracciones del hospital, extrayendo 5 ml de sangre total en un recipiente con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como

anticoagulante. Esta muestra se remite al laboratorio para la extracción de DNA genómico.

5.8. Extracción de DNA genómico

La extracción de DNA llevada a cabo se realiza a partir de sangre total, extraída en tubo con anticoagulante EDTA, mediante el analizador Magna Pure LC 2.0 de Roche Diagnostics (nº serie: LC2C0000072) y el kit Magna Pure LC DNA Isolation Kit-Large Volume (REF 03310515001, LOT 39343900) (Ver Ilustración 22(108))

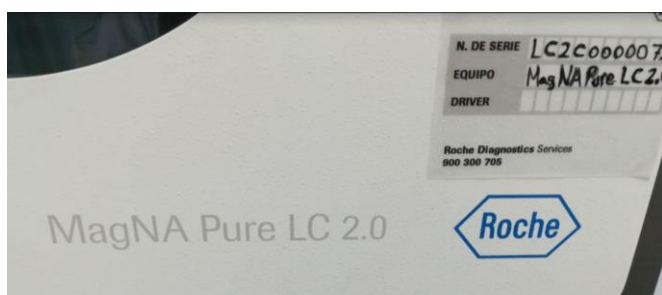
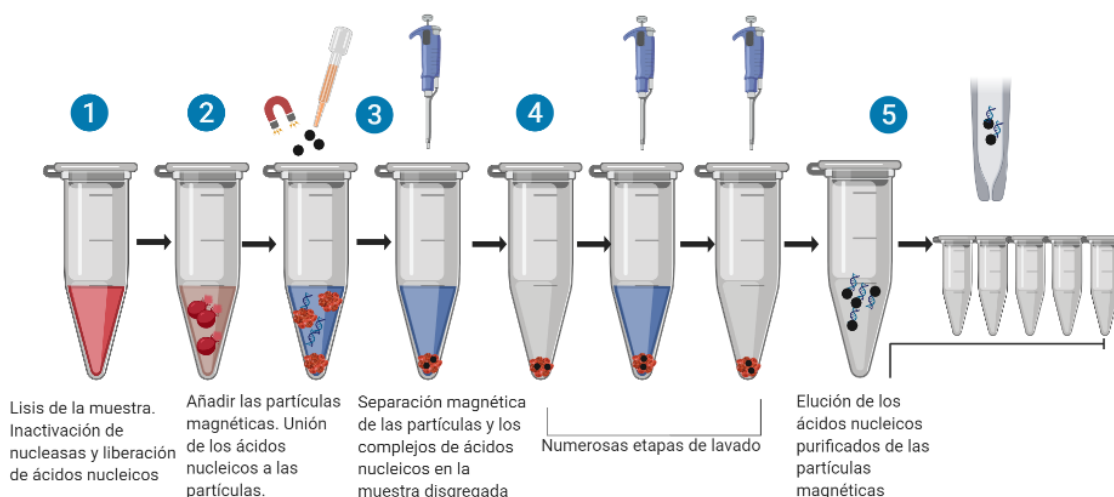


Ilustración 22. Magna Pure LC 2.0 Roche Diagnostic.

Los pasos básicos para la extracción de DNA (Ver ilustración 23 (109)) son:

1. Se produce la lisis de células, liberación de los ácidos nucleicos y desnaturalización de nucleasas.
2. Se añaden partículas magnéticas con una superficie de sílice a la que se unen los ácidos nucleicos favorecido por la presencia sales caotrópicas y a la alta potencia iónica del buffer de lisis o de unión.
3. Se captan por magnetismo las partículas con los ácidos nucleicos unidos separándola del resto de la muestra lisada.
4. Se eliminan proteínas, residuos celulares e inhibidores de la PCR mediante diversos procesos de lavado.
5. Los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas magnéticas.



***Ilustración 23.** Procesos básicos de la extracción de DNA genómico. Adaptado de Roche Diagnostics.*

Para la extracción de DNA se siguieron las instrucciones de la casa comercial. Una vez obtenido el DNA se envió una alícuota para el análisis de los genes *BRCA1/2* al centro de referencia el Hospital Universitario Clínico San Carlos y se congeló otra alícuota en la colección de muestras registrada en el Instituto de Salud Carlos III, con el número C.0004384 cuya responsable es la coordinadora hospitalaria de la Unidad de Cáncer Familiar.

Para el estudio experimental se utilizaron las alícuotas de la colección para evitar nueva extracción sanguínea.

5.9. Estudio Molecular de los genes *BRCA1* y *BRCA2*:

En el laboratorio de biología molecular del Hospital Clínico San Carlos se realizó el análisis genético de los genes *BRCA1/2* mediante “Multiple Ligation Probe Amplification” (MLPA) y secuenciación Sanger y posteriormente desde 2014 por NGS utilizando un panel dirigido específico para *BRCA1* y *BRCA2*.

Los resultados son remitidos a la coordinadora de la Unidad de cáncer familiar para el asesoramiento pos test y para su integración en la historia clínica del paciente.

5.10. Cuantificación de DNA genómico

Antes de comenzar el estudio experimental con NGS realizado en el laboratorio del HULPR, se cuantificó el DNA genómico de doble cadena con un método fluorimétrico de doble canal (Quantus TM, Promega, ver ilustración 24) para conocer la pureza de las alícuotas congeladas así como para proceder a la normalización de las muestras a una concentración final de 5 nanogramos/microlitro (ng/mcL).



Ilustración 24. Fluorímetro Quantus de Promega.

Los materiales utilizados para la cuantificación son:

- Blanco: TE (Tris EDTA 1x)
- Eppendorfs de 0,5 mL transparentes
- Control positivo: 1 mcL de λ a concentración conocida de 400 ng y 199 mcL de dsDNA Dye
- Control negativo: 1mcL de TE y 199 mcL de dsDNA Dye
- Calibrador λ a concentración conocida de 400 ng y blanco con dsDNA Dye

Procedimiento:

1. Preparar las muestras para la calibración:
 - a. Blanco: 199 mcL de dsDNA Dye y 1 mcL de TE
 - b. Calibrador: 199 mcL de dsDNA Dye y 1 mcL de λ a concentración conocida de 400 ng
 - c. Vortex 10 segundos
 - d. Incubar 5 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz.
2. En primer lugar, se realiza una lectura del blanco y posteriormente calibrar con el calibrador de concentración conocida.
3. La preparación de las muestras para su lectura se realiza mezclando:
 - a. 199 mcL de dsDNA Dye y 1 mcL de muestra
 - b. Control negativo: 199 mcL de dsDNA Dye y 1 mcL de TE
 - c. Control positivo: 199 mcL de dsDNA Dye y 1 mcL de λ a concentración conocida de 400 ng
 - d. Vortex 10 segundos
 - e. Incubar 5 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz.
4. Se realiza en primer lugar la lectura del blanco y del control positivo y posteriormente las muestras.

Las concentraciones de las alícuotas de las 47 pacientes fueron:

<u>PRIMERA CARRERA DE NGS</u>	
Paciente	Concentración de DNA genómico (ng/mcL)
1	40
2	55
3	89
4	80
5	77
6	70
7	31
8	69
9	45
10	99

11	70
12	101
13	102
14	27
15	91
16	75
17	42
18	91
19	63
20	94
21	89
22	106
23	111
24	80

SEGUNDA CARRERA DE NGS

Paciente	Concentración de DNA genómico (ng/mcL)
25	32
26	190
27	56
28	37
29	105
30	73
31	84
32	107
33	87
34	75
35	75
36	87
37	85
38	122

39	103
40	110
41	81
42	142
14	60
43	68
44	88
45	88
46	100
47	103

5.11. Estudio Molecular de genes *BRCA*X:

El análisis de NGS para el estudio de genes distintos a *BRCA1/2* se realizó en el laboratorio de biología molecular del HULPR.

El solapamiento de los distintos tumores que presentan a menudo las familias con síndromes de cáncer hereditario dificulta la elección de los genes candidatos de estudio.

5.11.1. Selección del Panel de genes:

Puesto que el presupuesto era limitado para el estudio de exoma, se procedió a la elección de un panel dirigido al estudio de genes relacionados con el cáncer. Se seleccionó el panel más amplio y que incluyera el análisis de SNP relacionados con el cáncer en el mayor número de pacientes posibles a analizar dentro del presupuesto disponible.

Se priorizó la disponibilidad en el panel, de genes de alta y moderada penetrancia para el cáncer de mama y ovario hereditario (ver tabla 22 (22)) así como la presencia de genes que se conoce que han sido relacionados en dicho síndrome y que se comparten con otros fenotipos como la anemia de Fanconi.

Tabla 22. Penetrancia de los genes relacionados con el SCMOH.

Penetrancia	Genes implicados en la susceptibilidad a CMOH							
<i>Alta</i>	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i> (<i>FANCD1</i>)	<i>TP53</i>	<i>PTEN</i>	<i>STK11</i>	<i>CDH1</i>	<i>RAD51C</i> (<i>FANCO</i>)	
<i>Moderada</i>	<i>ATM</i>	<i>CHEK2</i>	<i>BRIP1</i> (<i>FANCI</i>)	<i>PALB2</i> (<i>FANCN</i>)	<i>MRE11</i>	<i>NBS1</i>	<i>RAD50</i>	<i>RAD51D</i>

Finalmente, tras analizar varias ofertas comerciales se seleccionó el panel TruSight Cancer de Illumina distribuido por la empresa Genycell S.L. En

las siguientes tablas (ver tabla 19 y 20) se describen los 94 genes y los 287 SNP incluidos en el panel. Se incluyen en el análisis las secuencias exónicas completas y 25 pares de bases antes y después de la zona codificante. Dicho panel incluye también genes relacionados con otros síndromes de cáncer hereditario hecho que nos permite cubrir el solapamiento fenotípico y genético entre los distintos síndromes.

Tabla 19. Descripción de los 94 genes incluidos en el panel de TruSight Cancer de Illumina.

Genes incluidos en el panel				
<i>AIP</i>	<i>EGFR</i>	<i>HNF1A</i>	<i>RAD51D</i>	<i>XPA</i>
<i>ALK</i>	<i>EPCAM</i>	<i>HRAS</i>	<i>RB1</i>	<i>XPC</i>
<i>APC</i>	<i>ERCC2</i>	<i>KIT</i>	<i>RECQL4</i>	
<i>ATM</i>	<i>ERCC3</i>	<i>MAX</i>	<i>RET</i>	
<i>BAP1</i>	<i>ERCC4</i>	<i>MEN1</i>	<i>RHBDF2</i>	
<i>BLM</i>	<i>ERCC5</i>	<i>MET</i>	<i>RUNX1</i>	
<i>BMPR1A</i>	<i>EXT1</i>	<i>MLH1</i>	<i>SBDS</i>	
<i>BRCA1</i>	<i>EXT2</i>	<i>MSH2</i>	<i>SDHAF2</i>	
<i>BRCA2</i>	<i>EZH2</i>	<i>MSH6</i>	<i>SDHB</i>	
<i>BRIP1</i>	<i>FANCA</i>	<i>MUTYH</i>	<i>SDHC</i>	
<i>BUB1B</i>	<i>FANCB</i>	<i>NBN</i>	<i>SDHD</i>	
<i>CDC73</i>	<i>FANCC</i>	<i>NF1</i>	<i>SLX4</i>	
<i>CDH1</i>	<i>FANCD2</i>	<i>NF2</i>	<i>SMAD4</i>	
<i>CDK4</i>	<i>FANCE</i>	<i>NSD1</i>	<i>SMARCB1</i>	
<i>CDKN1C</i>	<i>FANCF</i>	<i>PALB2</i>	<i>STK11</i>	
<i>CDKN2A</i>	<i>FANCG</i>	<i>PHOX2B</i>	<i>SUFU</i>	
<i>CEBPA</i>	<i>FANCI</i>	<i>PMS1</i>	<i>TMEM127</i>	
<i>CEP57</i>	<i>FANCL</i>	<i>PMS2</i>	<i>TP53</i>	

<i>CHEK2</i>	<i>FANCM</i>	<i>PRF1</i>	<i>TSC1</i>	
<i>CYLD</i>	<i>FH</i>	<i>PRKAR1A</i>	<i>TSC2</i>	
<i>DDB2</i>	<i>FLCN</i>	<i>PTCH1</i>	<i>VHL</i>	
<i>DICER1</i>	<i>GATA2</i>	<i>PTEN</i>	<i>WRN</i>	
<i>DIS3L2</i>	<i>GPC3</i>	<i>RAD51C</i>	<i>WT1</i>	

Tabla 20. Descripción de los 287 polimorfismos incluidos en el panel TruSight Cancer de Illumina.

Polimorfismos incluidos en el panel

rs17401966	rs6435862	rs17505102	rs13361707	rs2596542	rs9364554
rs9430161	rs13387042	rs710521	rs2121875	rs2248462	rs7758229
rs7538876	rs966423	rs2131877	rs4415084	rs3117582	rs4487645
rs11249433	rs13397985	rs798766	rs889312	rs204999	rs11978267
rs7412746	rs7584330	rs1494961	rs10052657	rs9268542	rs4132601
rs3790844	rs2292884	rs12500426	rs20541	rs6903608	rs6465657
rs6691170	rs757978	rs17021918	rs4624820	rs2395185	rs1495741
rs6687758	rs4973768	rs1229984	rs10058728	rs2858870	rs1512268
rs801114	rs1052501	rs971074	rs872071	rs674313	rs2439302
rs1465618	rs2660753	rs7679673	rs12210050	rs28421666	rs16892766
rs7579899	rs9284813	rs10069690	rs4712653	rs2647012	rs1016343
rs1432295	rs17181170	rs2242652	rs6939340	rs10484561	rs1456315
rs721048	rs9841504	rs2736100	rs4324798	rs9275572	rs16901979
rs10187424	rs10934853	rs2853676	rs29232	rs210138	rs2456449
rs17483466	rs6763931	rs4635969	rs3129055	rs10484761	rs16902094
rs12621278	rs6774494	rs4975616	rs2860580	rs339331	rs445114
rs2072590	rs10936599	rs401681	rs2517713	rs2180341	rs13281615
rs13016963	rs10936632	rs31489	rs6457327	rs9485372	rs1562430
rs13393577	rs4488809	rs12653946	rs130067	rs2046210	rs10505477

rs3768716	rs10937405	rs2255280	rs2894207	rs651164	rs6983267
rs7014346	rs9642880	rs2294008	rs2157719	rs865686	rs10993994
rs1447295	rs2019960	rs7040024	rs1412829	rs505922	rs10821936
rs4242382	rs10088218	rs755383	rs1011970	rs10795668	rs7089424
rs4242384	rs891835	rs3814113	rs4977756	rs11012732	rs10822013
rs7837688	rs4295627	rs7023329	rs965513	rs3123078	rs10995190
rs224278	rs17119461	rs1219648	rs1945213	rs7105934	rs498872
rs704010	rs12413624	rs2981582	rs11228565	rs614367	rs735665
rs3765524	rs11199874	rs3817198	rs7931342	rs1393350	rs2900333
rs2274223	rs2981579	rs7127900	rs10896449	rs1801516	rs718314
rs3781264	rs2981575	rs110419	rs7130881	rs3802842	rs10875943
rs11169552	rs4765623	rs4444235	rs4784227	rs7210100	rs2735839
rs902774	rs1572072	rs4779584	rs3112612	rs1859962	rs961253
rs995030	rs9510787	rs4924410	rs9929218	rs17674580	rs910873
rs3782181	rs753955	rs4775302	rs391525	rs7238033	rs4925386
rs4474514	rs9600079	rs8030672	rs258322	rs4939827	rs6010620
rs11066015	rs9573163	rs7176508	rs1805007	rs8170	rs4809324
rs671	rs9543325	rs8034191	rs4785763	rs8102137	rs372883
rs4767364	rs7335046	rs1051730	rs4795519	rs10411210	rs2014300
rs2074356	rs944289	rs8042374	rs4430796	rs8102476	rs45430
rs11066280	rs116909374	rs3803662	rs7501939	rs11083846	rs1547374
rs738722	rs5945619	rs3755132	rs7584993	rs7808249	rs4793172
rs36600	rs5919432	rs790356	rs17272796	rs1106334	rs242076
rs2284063	rs1321311	rs5955543	rs1155741	rs11017876	rs6603251
rs1014971	rs3824999	rs10974944	rs161792	rs9572094	AMG_mid100
rs5759167	rs5934683	rs1210110	rs11940551	rs4905366	MITF_ rs149617956

rs5768709	rs2283873	rs7555566	rs9293511	rs4775699	ATM_SNP
rs1327301	rs807624	rs1364054	rs9352613	rs1528601	HOXB13_ rs138213197
rs5945572	rs1027643	rs6734275	rs685449	rs11655512	

5.11.2. Parámetros de calidad:

La calidad de los datos obtenidos de la NGS depende de la calidad de los procesos previos a la obtención de estos mismos.

En ambas carreras los Scores de calidad para el control de la librería se realizaron con el fago PhiX 2 × 300 pares de bases en la plataforma MiSeq de Illumina con el SoftWare de control de Miseq vs 2.4.

En la primera carrera, realizada en agosto de 2018, el Score Q30 fue igual o superado por el 94,1% del total de bases. (Ver ilustración 25).

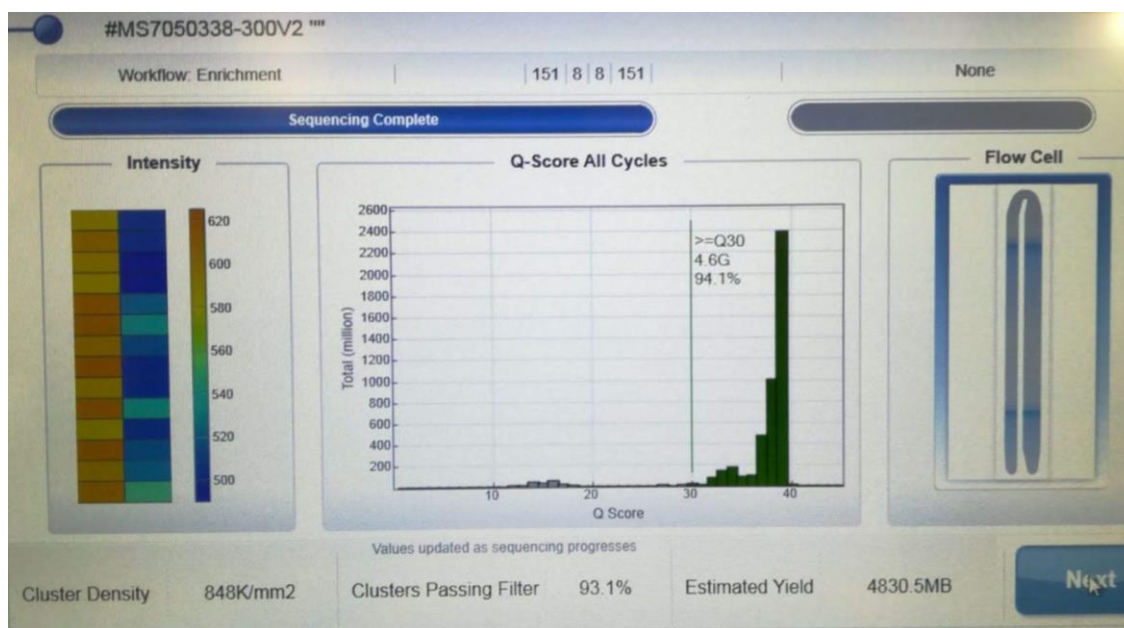


Ilustración 25. Parámetros de calidad de la primera carrera NGS.

En la segunda carrera, realizada en diciembre de 2018, el Score Q30 fue igual o superado por el 94% del total de bases (ver ilustración 26)

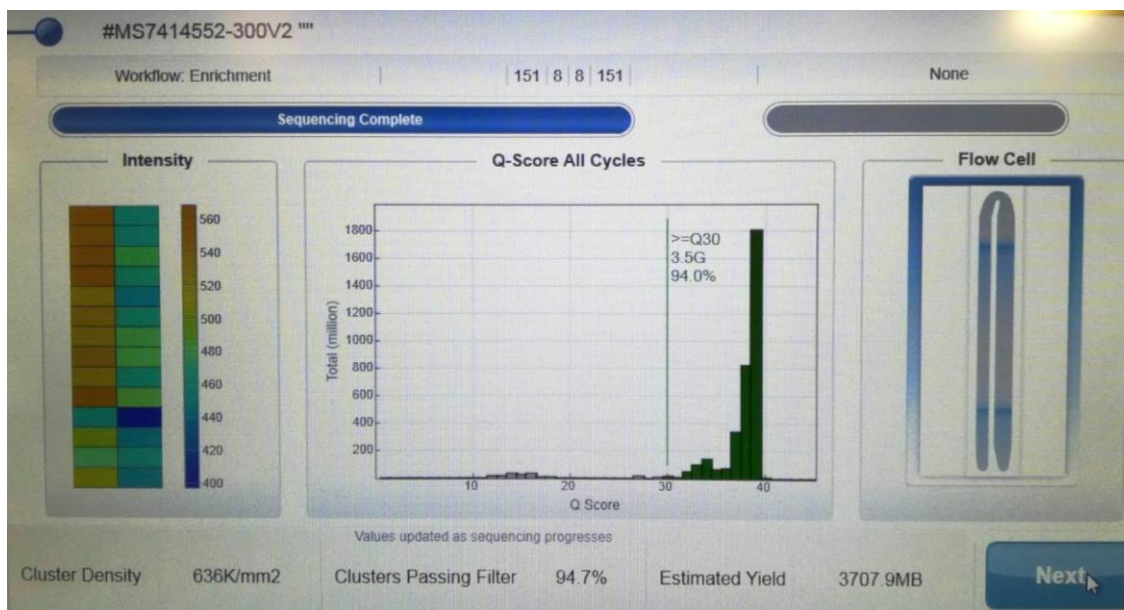


Ilustración 26. Parámetros de calidad segunda carrera de NGS.

Si bien es cierto, se observa que la segunda carrera tiene menores intensidades y menor densidad de clusters que la primera sin embargo, en ambos casos más del 90% del total de bases superaron el score Q30 por lo que en ambas carreras la probabilidad de error fue del 0,001 siendo ambas aceptadas.

Para confirmar la trazabilidad de resultados se repitió en las 47 pacientes el análisis de los genes *BRCA1* y *BRCA2* repitiendo la negatividad para la búsqueda de variantes en dichos genes previamente informada en el laboratorio de referencia. Hay que especificar que una de las pacientes incluidas en el estudio (nº15) portaba una VSD en *BRCA2* (NM_000059.3:c.3883C>A (p.Gln1295Lys) informada tras el análisis en el laboratorio del hospital de referencia. Dicha paciente incluida en la primera carrera, se detectó en nuestro experimento la misma variante detectada en el Hospital Universitario Clínico San Carlos en el estudio asistencial. Por otro lado, entre ambas carreras se repitió la paciente número 14 como control. En ambas carreras se detectaron para esta paciente 301 frente

a 309 variantes con una profundidad igual o superior a 20, tras analizar los resultados la interpretación de estos fue la misma en ambos casos y las diferencias en el número de variantes detectadas en una y otra carrera, la mayor parte de ellas, vienen dadas por variantes presentes en ambas carreras pero que en la segunda superaban el filtro de profundidad de 20 y en la primera no (coincidiendo con el menor número de clúster y por tanto una mayor probabilidad de falsos positivos) todas ellas missense y clasificadas como benignas. Sin embargo, destaca una de esas variantes que es clasificada por el software Saphetor y en la base de datos Varsome como probablemente patogénica (NM_033084.5:c.1275_1278+5delCTTAGTAAGinsTTTAT) presente en la segunda carrera con una profundidad de 26 en el gen FANCD2, no presente en la primera y que tras analizarla con el programa Integrative Genomics Viewer (IGV), que nos permite visualizar con mayor rendimiento los resultados, se pudo observar que se trataba de un error de secuenciación o falso positivo que se encontraba en ambos sentidos de direccionalidad de la cadena de DNA pero presente en otras pacientes no relacionadas entre sí e incluidas en la misma carrera (ver ilustración 27).

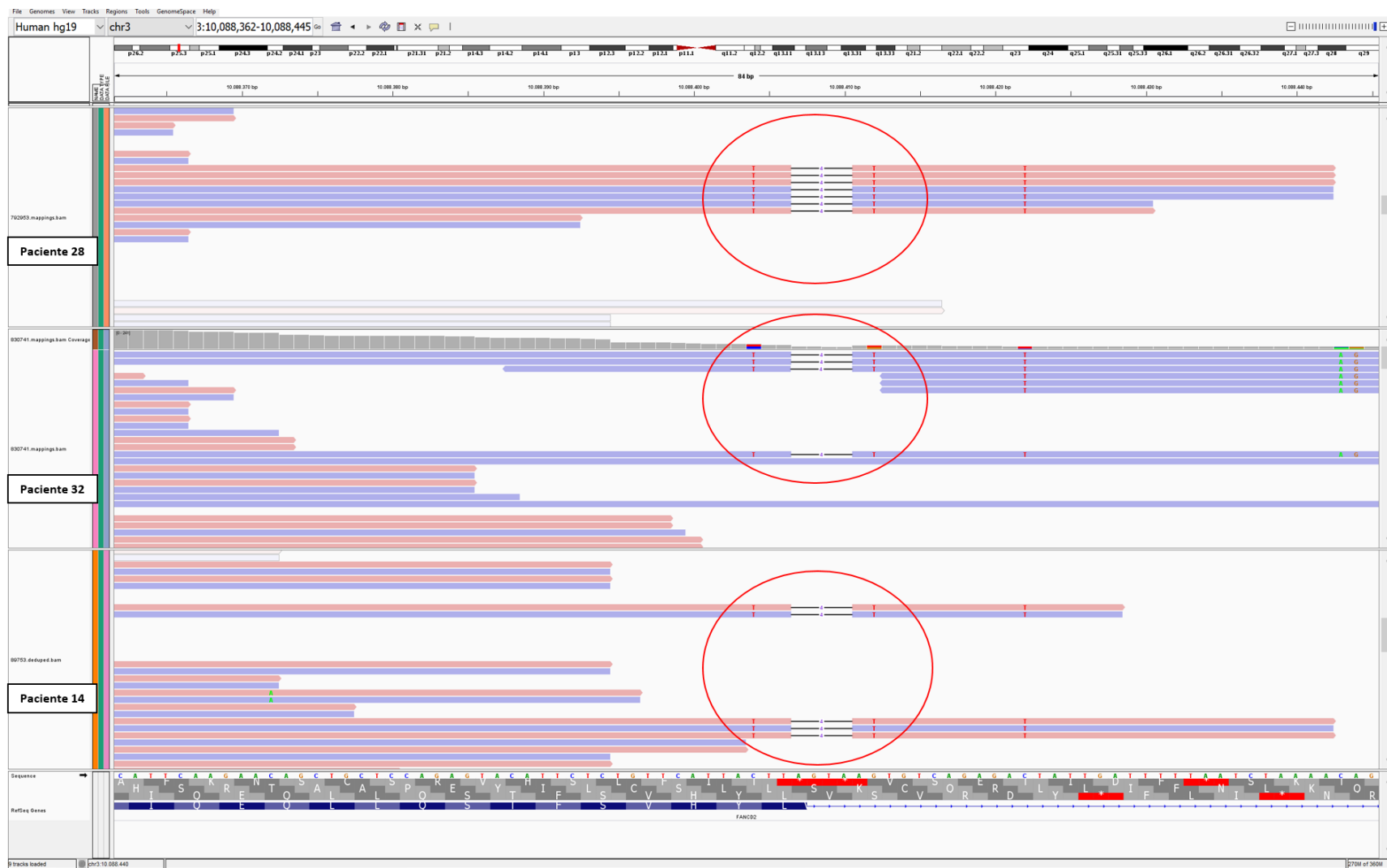


Ilustración 27. Visualización con el programa IGV de las pacientes 28,32 y 14 la presencia de la variante NM_033084.5:c.1275_1278+5delCTTAGTAAGinsTTTAT.

5.11.3. Preparación de librerías

Las librerías se prepararon siguiendo el protocolo de **Illumina TruSight Rapid Capture**. La preparación de cada librería se realizó en 3 días y el reparto de los pasos a seguir se muestra en la ilustración 28.

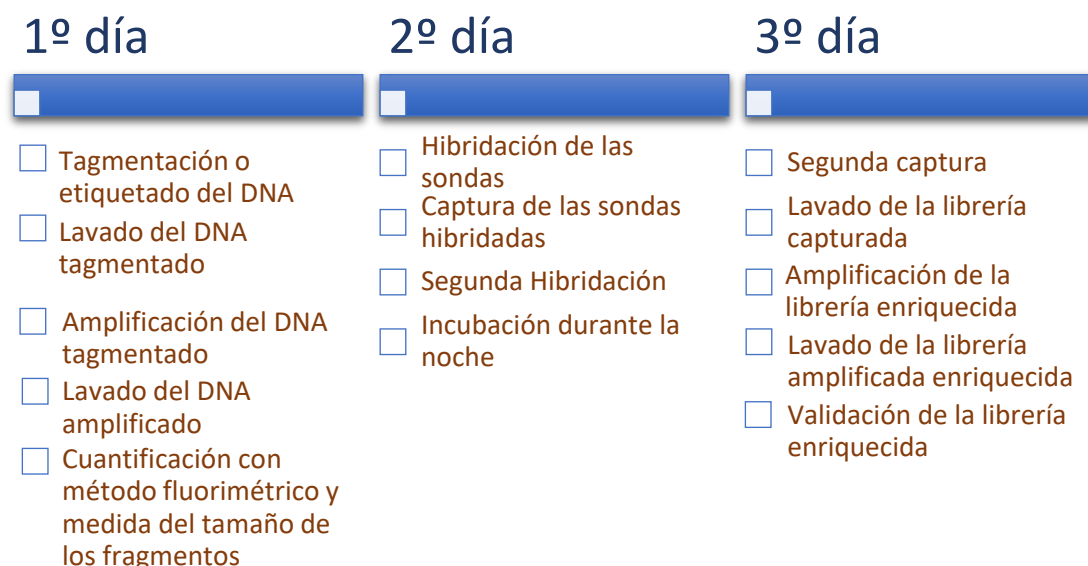


Ilustración 28. Organigrama de trabajo para la preparación de las librerías.

Se realizaron tres preparaciones de librerías de 24 muestras cada una y se realizaron dos carreras de NGS (ver ilustración 29). La segunda preparación de librería resultó fallida y fue necesario repetirla por error en la amplificación del DNA tagmentado debido a el mal estado de uno de los reactivos (Nextera Library amplification Mix) que había expirado la fecha de caducidad y fue repuesto en buen estado por la casa comercial.

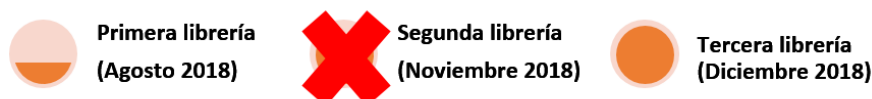


Ilustración 29. Secuencia temporal de preparación de librerías.

El reparto de las pacientes en cada librería fue según se muestra en la tabla 21. El paciente número 14 fue utilizado como control entre ambas carreras y el 15 como control positivo al portar una variante de significado

desconocido en *BRCA2* determinada en el laboratorio de referencia (ver apartado de [parámetros de calidad](#))

Tabla 21. Distribución de las pacientes en los dos ensayos de NGS

Primera librería (Agosto 2018)	Tercera librería (Diciembre 2018)
Paciente 1	Paciente 25
Paciente 2	Paciente 26
Paciente 3	Paciente 27
Paciente 4	Paciente 28
Paciente 5	Paciente 29
Paciente 6	Paciente 30
Paciente 7	Paciente 31
Paciente 8	Paciente 32
Paciente 9	Paciente 33
Paciente 10	Paciente 34
Paciente 11	Paciente 35
Paciente 12	Paciente 36
Paciente 13	Paciente 37
Paciente 14*	Paciente 38
Paciente 15**	Paciente 39
Paciente 16	Paciente 40
Paciente 17	Paciente 41
Paciente 18	Paciente 42
Paciente 19	Paciente 14*
Paciente 20	Paciente 43
Paciente 21	Paciente 44
Paciente 22	Paciente 45
Paciente 23	Paciente 46
Paciente 24	Paciente 47

Al comenzar con la preparación de la librería, las muestras se llevan a una concentración de 5 ng/mcL antes de la tagmentación. Para ello se hace una dilución de las muestras según la concentración inicial de estas para un volumen final de 10 mcL (Ver tablas 22 y 23).

Tabla 22. Cálculos para normalizar muestras primera librería a 5ng/mcL

**Primera librería NGS Natalia
(Agosto 2018)**

Paciente	[Qubit	V 10 ng/ml (30ul)	H2O	[Qubit	V 5 ng/mcL (10)	H2O
1	40	7,50	22,50	7,6	6,6	3,4
2	55	5,45	24,55	9,3	5,4	4,6
3	89	3,37	26,63	8,7	5,7	4,3
4	80	3,75	26,25	11	4,5	5,5
5	77	3,90	26,10	10	5,0	5,0
6	70	4,29	25,71	9,4	5,3	4,7
7	31	9,68	20,32	8,5	5,9	4,1
8	69	4,35	25,65	5,3	10,0	0,0
9	45	6,67	23,33	7,7	6,5	3,5
10	99	3,03	26,97	8,1	6,2	3,8
11	70	4,29	25,71	7,9	6,3	3,7
12	101	2,97	27,03	10	5,0	5,0
13	102	2,94	27,06	8,9	5,6	4,4
14	27	11,11	18,89	4,49	10,0	0,0
15	91	3,30	26,70	10	5,0	5,0
16	75	4,00	26,00	7,6	6,6	3,4
17	42	7,14	22,86	8,7	5,7	4,3
18	91	3,30	26,70	9,1	5,5	4,5
19	63	4,76	25,24	9,5	5,3	4,7
20	94	3,19	26,81	8,8	5,7	4,3
21	89	3,37	26,63	8	6,3	3,8
22	106	2,83	27,17	14	3,6	6,4
23	111	2,70	27,30	4,4	10,0	0,0
24	80	3,75	26,25	6,8	7,4	2,6

Tabla 23. Cálculos para normalizar muestras tercera librería a 5ng/mcL.

**Tercera librería NGS Natalia
(Diciembre 2018)**

Paciente	[]	V 10 ng/ml (30ul)	H2O	[]	V 5 ng/mcL (10))	H2O
25	32	9,38	20,63	9	5,6	4,4
26	190	1,58	28,42	8	6,3	3,8
27	56	5,36	24,64	9,5	5,3	4,7
28	37	8,11	21,89	8,3	6,0	4,0
29	105	2,86	27,14	13	3,8	6,2
30	73	4,11	25,89	10	5,0	5,0
31	84	3,57	26,43	8,9	5,6	4,4
32	107	2,80	27,20	9,5	5,3	4,7
33	87	3,45	26,55	8,3	6,0	4,0
34	75	4,00	26,00	9,5	5,3	4,7
35	75	4,00	26,00	10	5,0	5,0
36	87	3,45	26,55	9,3	5,4	4,6
37	85	3,53	26,47	9,8	5,1	4,9
38	122	2,46	27,54	9,1	5,5	4,5
39	103	2,91	27,09	9,3	5,4	4,6
40	110	2,73	27,27	10	5,0	5,0
41	81	3,70	26,30	11	4,5	5,5
42	142	2,11	27,89	11	4,5	5,5
14	60	5,00	25,00	9,3	5,4	4,6
43	68	4,41	25,59	8,9	5,6	4,4
44	88	3,41	26,59	9	5,6	4,4
45	88	3,41	26,59	12	4,2	5,8
46	100	3,00	27,00	9,7	5,2	4,8
47	103	2,91	27,09	10	5,0	5,0

La cuantificación realizada al final del primer día da paso a la formación de dos pooles de 12 muestras cada uno y a partir del segundo día se trabajará con estos dos pooles que contienen todas las muestras correctamente indexadas para su identificación inequívoca.

A continuación, se indican en las siguientes tablas 24 y 25 la cuantificación tras finalizar el primer día, así como qué pacientes formaron parte de cada pool y la cuantificación al finalizar el tercer día de cada pool antes de prepararlo para la inyección en el cartucho.

Tabla 24. Cuantificación de la primera librería después del primer día, distribución de las muestras en los pooles y cuantificación de los pooles.

Primera Librería Agosto 2018					
Paciente	Nº muestra	[] ng/ul Quantus	ul (500ng)		[] ng/ul Quantus
12	1	89	5,62	Pool 1	2,04
18	2	62	8,06		
17	3	65	7,69		
8	4	73	6,85		
21	5	67	7,46		
23	6	61	8,20		
3	7	83	6,02		
24	8	67	7,46		
2	9	56	8,93		
1	10	82	6,10		
9	11	88	5,68		
13	12	91	5,49		
16	13	84	5,95	Pool 2	3,28
20	14	73	6,85		
7	15	81	6,17		
11	16	77	6,49		
22	17	74	6,76		
14	18	70	7,14		
19	19	83	6,02		
15	20	65	7,69		
10	21	40	12,50		
6	22	67	7,46		
5	23	74	6,76		
4	24	67	7,46		

Tabla 25. Cuantificación de la tercera librería después del primer día, distribución de las muestras en los pooles y cuantificación de los pooles.

Tercera Librería Diciembre 2018					
Paciente	Nº muestra	[] ng/ul Quantus	ul (500ng)		[] ng/ul Quantus
45	25	66	7,58	Pool 1	1,46
32	26	66	7,58		
47	27	76	6,58		
34	28	73	6,85		
41	29	80	6,25		
40	30	79	6,33		
14	31	75	6,67		
36	32	74	6,76		
25	33	37	13,51		
29	34	68	7,35		
35	35	83	6,02		
38	36	88	5,68		
39	37	80	6,25		
33	38	61	8,20	Pool 2	1,24
26	39	75	6,67		
42	40	65	7,69		
31	41	47	10,64		
44	42	81	6,17		
28	43	82	6,10		
37	44	60	8,33		
27	45	36	13,89		
46	46	68	7,35		
43	47	76	6,58		
30	48	86	5,81		

A partir del segundo día se trabaja con los dos pooles que reúnen las 24 muestras por carrera, ello es posible gracias a la fijación de unos adaptadores inequívocos a cada muestra en el paso de amplificación del DNA tagmentado. Este paso es **crucial** realizarlo correctamente pues si no se podría concurrir en un error de identificación de la muestra y por tanto de asignación de resultados incorrectos.

Después del tercer día y antes de la preparación del cartucho y las muestras para su inyección se valida la librería enriquecida midiendo la concentración de los pools con un método fluorimétrico y se analiza el tamaño de los fragmentos.

Para el análisis de los fragmentos utilizamos el equipo QIAxcel de QIAGEN (ver ilustración 30). Se siguió el procedimiento indicado en el manual del equipo:

-Se cargaron 2ul de muestra + 8ul de diluyente y se realizó el alineamiento de 15a 3000pb.

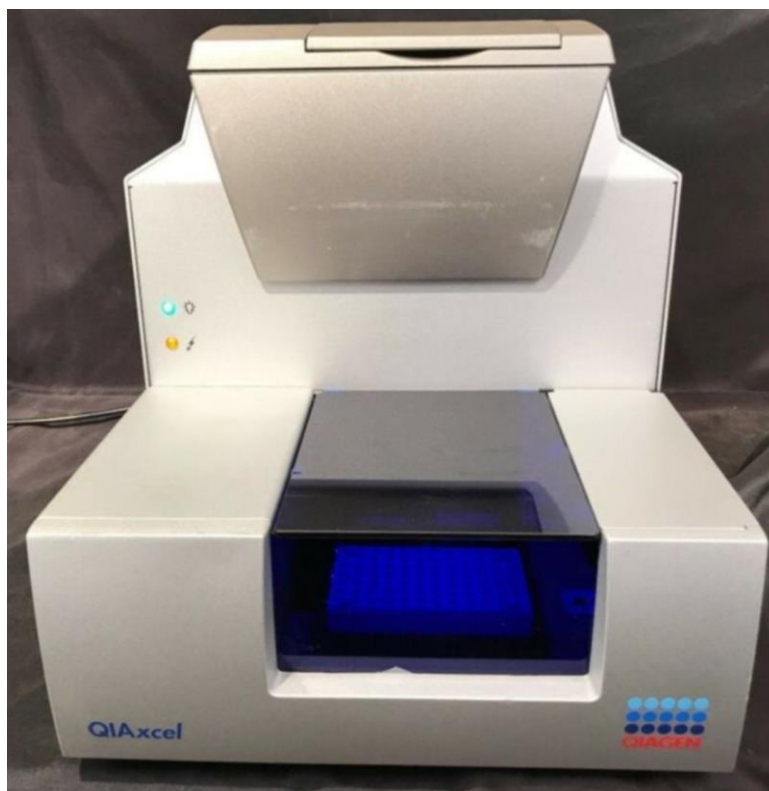


Ilustración 30. Equipo para la determinación del tamaño de los fragmentos de DNA.

El tamaño de los fragmentos de los pools fue los indicados en la tabla 26.

Tabla 26. *Tamaño de los fragmentos de los pooles de ambas librerías*

	POOL1	POOL2
Primera librería	319 pb	312 pb
Tercera librería	273 pb	279 pb

Preparación del cartucho e inyección de la muestra:

Para la inyección de las muestras y el fago en el cartucho es necesario primero normalizarlos a una concentración de 4nM e ir reduciendo la concentración hasta la idónea según el cartucho utilizado. En nuestro caso usamos un cartucho V2 de 300 ciclos por lo que se redujeron las concentraciones a 8pM según se indica en la ilustración 33 y 34.

El fago se reduce a una concentración de 12,5 pM.

Posteriormente se mezclan 590 mcL de librería con 10 mcL del fago y se carga la mezcla en el cartucho. Es importante evitar la formación de burbujas.

El Miseq solo cogerá 500 mcL el resto es volumen muerto.

Preparación de la célula de flujo o “Flow Cell”:

La Flow cell se enjuaga con agua miliq y después con etanol de 70 y 80 grados. Después se seca con papel que no deje pelusa y secar bien para que no quede ningún resto de etanol (ver ilustración 31)

**Ilustración 31.** *Célula de flujo.*

En los secuenciadores de Illumina la célula de flujo está compuesta por 1 línea en el MiSeq y esta línea está formada por 2 columnas y cada columna tiene 50 pequeñas secciones.

A la hora de secuenciar lo que se hace es tomar 4 imágenes por sección y por ciclo. El objetivo es convertir estas imágenes a intensidades para cada lectura. Los secuenciadores sacan las lecturas con los nucleótidos y la calidad asociada. Esto suele ser en formato texto y la mayoría devuelve como salida estándar un formato tipo FASTQ.

Miseq

Se enciende el secuenciador ubicado en una sala refrigerada (ver ilustración 32). Se crea la hoja de muestras, se carga la célula de flujo el recipiente de desechos y se introduce el cartucho y los diluyentes. En nuestro caso dejamos el equipo secuenciando el viernes y el lunes se recogieron los resultados en formato tipo FASTQ.

Dichos archivos se subieron a la plataforma **DNA NEXUS** (110) para el análisis bioinformático.



Ilustración 32. Equipo de secuenciación de nueva generación Miseq de Illumina del HULPR.

Nombre de la Carrera	1°NGS NATALIA
FlowCell:	V2
Fecha	03/08/2018
Pool1	Para llevar a una concentración nM= 4 Volumen total en μL = 10
[DNA] ng/ μL	2,04
Tamaño en bp	319
nM DNA	9,69
Pool2	Para llevar a una concentración nM= 4 Volumen total en μL = 10
[DNA] ng/ μL	3,28
Tamaño en bp	312
nM DNA	15,93
Pool	
PhX 10nM	Para llevar a una concentración nM= 4 Volumen total en μL = 10
	10 μL stock (final)
	4,13 μL DNA
	5,87 μL IDTE
	10 μL stock (final)
	2,51 μL DNA
	7,49 μL IDTE
	10 μL stock (final)
	4,00 μL DNA
	6,00 μL IDTE

Pool1 (5ul)+Pool2 (5ul)=DNA	
Desnaturalización para la mezcla de Pool a 4nM	
DNA 4nM	5 μL
0.2N NaOH	5 μL
	10 μL
Vortex brevemente y spin @ 280g for 1'	
Incubar 5' a temperatura ambiente	
Añadir 990 μL de HT1 pre enfriado en hielo	
Pool 8pM (600ul)	
240ul Pool 20pM	
360ul HT1	
Pool 2nM	
Pool 20pM	

Desnaturalización para PhX a 4nM	
DNA 4nM	5 μL
0.2N NaOH	5 μL
	10 μL
Vortex brevemente y spin @ 280g for 1'	
Incubar 5' a temperatura ambiente	
Añadir 990 μL de HT1 pre enfriado en hielo	
PhX 12,5pM (60ul)	
37,5 ul PhX 20pM	
22,5ul HT1	
PhX 2nM	
PhX 20pM	

CARTUCHO	
Pool 8pM	590ul
PhX 12,5pM	10ul

Ilustración 33. Cálculos de la primera carrera para la inyección de la muestra y el fago en el cartucho.

Ilustración 34. Cálculos de la tercera carrera para la inyección de la muestra y el fago en el cartucho.

5.11.4. Estudio bioinformático

Para el estudio bioinformático que comprende muchos pasos, entre ellos el cambio de formato de los archivos FASTQ generados en el secuenciador así como el alineamiento con el genoma de referencia (**hg19**) (ver ilustración 35 (111)) y la llamada de variantes, se realizó con el pipeline de “**DNA NEXUS**”(110): **custom pipeline for Nextera kits on Illumina with freebayes.**

Este pipeline se compone de los siguientes programas:

- ✓ **FASTQC**: para ver la calidad de la muestra
- ✓ **bwa-mem**: para mapear las lecturas
- ✓ **samtools**: para ordenar e indexar los archivos bam
- ✓ **picard MarkDuplicates**: para marcar duplicados
- ✓ **freebayes**: para la llamada de variantes
- ✓ **picard CalculateHSMetrics**: para calcular métricas
- ✓ **bedtools y un código personalizado**: para determinar las coberturas mínimas
- ✓ **GATK**: para anotar las variantes con dbsnp
- ✓ **Vep**: para anotar las variantes



Ilustración 35. Procesos a realizar por un Pipeline bioinformático.

Para la visualización de archivos VCF y para la anotación mediante la consulta de distintas bases de datos y el filtrado de variantes se ha utilizado la plataforma “**Saphetor**”(112) actualmente en transición a “**Clinical Varsome**”(113).

5.11.5. Análisis de datos e interpretación de resultados:

Para la interpretación de resultados se han seguido las recomendaciones de la guía Americana (111).

Las bases de datos consultadas se muestran en la tabla 27.

Tabla 27. Bases de datos consultadas para la interpretación de variantes.

Bases de datos consultadas

<i>Bases de datos poblacionales</i>	dbSNP, EXAC, 1000 genomes, gnomAD.
<i>Bases de datos específicas de enfermedad</i>	Clinvar, InterVar, Varsome, OMIM, HGMD
<i>Bases de datos de secuencias</i>	RefSeqGene, Ensembl

A su vez se han consultado para la interpretación los programas de predicción in silico que proporciona Varsome (Mutationtaster, Sift, Polyphen etc.)

Las variantes clasificadas como probablemente patogénicas o patogénicas con clara relación con el fenotipo estudiado fueron enviadas para su confirmación por secuenciación Sanger.

5.12. Influencia de los polimorfismos en la estimación del riesgo:

Se han extraído del panel utilizado los SNP que se han relacionado, mediante estudios de GWAS, con el desarrollo de cáncer de mama y ovario hereditario, resultando ser 30 SNP asociados con distintos Odds Ratios (OR) estimados. Los OR asociados a dichos SNP se han extraído de “SNPedia” o de bibliografía (ver tabla 28)

Se ha estudiado la presencia de dichos SNP en las 47 pacientes del estudio experimental observando la cigosidad de cada uno de ellos en cada paciente.

Tabla 28. Polimorfismos relacionados con el desarrollo de cáncer de mama y ovario estudiados para el cálculo del Score de riesgo.

SNP	Cáncer	OR [IC]	Ref / PMID
rs11249433	Mama	1.09 [1.07-1.11]	(114)/[PMID 23535729]
rs2072590	Ovario	1.13 [1.09-1.18]	(114)/[PMID 23535730]
rs13393577	Mama	1.53 [1.37-1.70]	(114)/[PMID 22452962]
rs13387042	Mama	1.20 [1.14-1.26]	(114)/[PMID 17529974]
rs4973768	Mama	1.16 [1.10-1.24]	(114)/[PMID 20453838]
rs10069690	Mama	1.15 [1.11-1.20]	(114)/[PMID 23535733]
rs4415084	Mama	1.17 [1.11-1.22]	(114)/[PMID 21263130]
rs889312	Mama	1.09[1.04-1.14]	(72)
rs2180341	Mama	1.41 [1.25-1.59]	(114)/[PMID 18326623]
rs9485372	Mama	0.90 [0.87-0.92]	(115)/[PMID 22383897]
rs2046210	Mama	1.05 [1.00-1.10]	(72)
rs13281615	Mama	1.08 [1.05-1.11]	(114)/[PMID 17529967]
rs1562430	Mama	1.17 [1.10-1.25]	(114)/[PMID 20453838]
rs10088218	Ovario	1.29 [1.21-1.36]	(114)/[PMID 23535730]
rs3814113	Ovario	1.28 [1.23-1.33]	(114)/[PMID 23535730]
rs1011970	Mama	1.09 [1.04-1.14]	(114)/[PMID 20453838]
rs865686	Mama	1.12 [1.1-1.14]	(114)/[PMID 23535729]
rs10822013	Mama	1.12 [1.06-1.18]	(114)/[PMID 21908515]
rs10995190	Mama	1,12 [1,10-1,14]	(72)
rs704010	Mama	1.07 [1.03-1.11]	(114)/[PMID 20453838]
rs2981579	Mama	1.43 [1.35-1.53]	(114)/[PMID 20453838]
rs2981575	Mama	1.28 [1.18-1.39]	(114)/[PMID 20453838]
rs1219648	Mama	1.20 [1.07-1.42]	(114)/[PMID 17529973]
rs2981582	Mama	1.26 [1.23-1.30]	(114)/[PMID 17529967]
rs3817198	Mama	1.07 [1.04-1.11]	(114)/[PMID 17529967]
rs614367	Mama	1.21 [1.18-1.24]	(114)/[PMID 23535729]
rs3803662	Mama	1.28 [1.21-1.35]	(114)/[PMID 17529974]
rs4784227	Mama	1.19 [1.09-1.31]	(114)/[PMID 20585626]
rs3112612	Mama	1.15 [1.10-1.21]	(114)/[PMID 21263130]
rs8170	Mama y Ovario	1.06 [1.07-1.17]	(114)/[PMID 23535733]

5.12.1. Cálculo del score

Para el cálculo del PRS se ha aplicado la fórmula de Hongyan Li et al. (71) en la que el PRS es el resultado de la suma de los scores individuales de cada SNP asociado al cáncer de mama y ovario presente en la paciente. El PRS asociado a cada SNP se calcula multiplicando la cigosidad en la que se porta el SNP por el logaritmo neperiano del OR que se le ha asignado en estudios

de GWAS y que están disponibles en portales como SNPedia (ver ilustración 36 (71)).

La cigosidad puede tomar los valores (0, 1, 2) según no se tenga el SNP, se tenga en heterocigosis o en homocigosis.

El cálculo individual de los 47 pacientes se puede observar en el [Anexo II](#).

$$Score(1 - 47) = \sum_{i=1}^{30} Zigosidad \times Ln(OR_i)$$

Ilustración 36. Ecuación para el cálculo del Score de riesgo asociado al cáncer de mama y ovario (Adaptado de Hongyan Li et al.)

5.12.2. Estimación del riesgo pretest de cáncer a los 10 años y a lo largo de la vida e influencia del score

Este cálculo persigue como objetivo calcular de manera retrospectiva, el riesgo de desarrollar cáncer a los 10 años y a lo largo de la vida (si las pacientes hubieran acudido a consulta antes del diagnóstico de cáncer) teniendo en cuenta la predisposición incrementada de cáncer en la familia con y sin la influencia del PRS. Por tanto, en esta población en la que las 47 pacientes son afectas, se estimará de manera retrospectiva el riesgo que se le habría calculado si hubiese acudido a la consulta de genética un año antes del diagnóstico de cáncer y el efecto sumatorio que tiene el PRS a dicho riesgo.

El cálculo individualizado del PRS en los 47 pacientes puede verse en el [Anexo II](#).

De esta manera podemos saber si dicho riesgo varía o no con el PRS estimado y podremos estudiar si dicha variación es significativa.

Para este cálculo se ha hecho uso de la herramienta IBIS *Breast Cancer Risk Evaluation Tool* vs 8.0 (116).

5.13. Análisis estadístico

El análisis estadístico se ha realizado haciendo uso de los programas estadísticos SPSS vs 22 y Medcalc (117)(118). Los gráficos se realizaron mediante el programa Microsoft Office Excel (119) y Biorender (120).

VI. RESULTADOS

6.1. Características demográficas generales

Desde el año 2006 al 2017 se han atendido un total de 809 familias con susceptibilidad a desarrollo de cáncer de mama y ovario hereditario observándose un crecimiento progresivo de la demanda de la atención ofrecida en la consulta de cáncer familiar (ver ilustración 37).

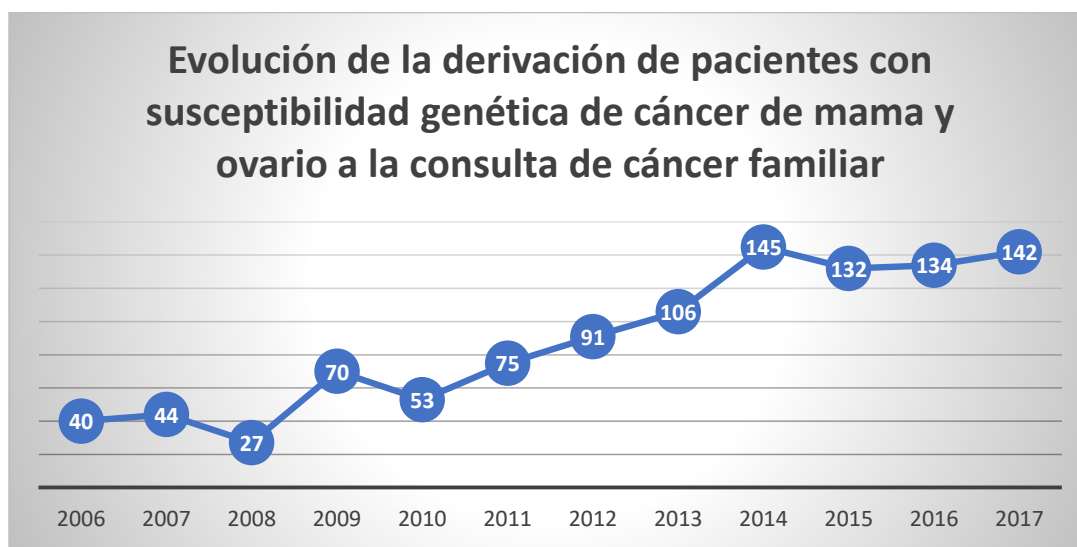


Ilustración 37. Evolución de la demanda de la consulta de cáncer familiar.

Se observa un pequeño receso en la derivación de pacientes a la consulta coincidente con la introducción en 2015 de los criterios clínicos de riesgo de la SEOM, pero sin interrumpir la tendencia creciente.

Las características generales de la población de estudio se muestran en la Tabla 29. La edad media de la población atendida en la consulta de cáncer de mama familiar fue de 47,9 años (15-91).

Tabla 29. Características demográficas de la población de referencia atendida en la consulta de cáncer familiar.

Característica	N (%)
<u>Género</u>	
Varones	114 (10,8%)
Mujeres	945 (89,2%)
<u>Familias</u>	809

Procedencia

Atención primaria

Atención especializada

333 (31,4%)

726 (68,6%)

Riesgo pre-test

Bajo

Moderado

Alto

146 (13,8%)

147 (13,9%)

766 (72,3%)

Caso

Índice

Familiar

502 (47%)

557 (53%)

6.1.1. Distribución por sexo

Se han atendido un total de 1059 pacientes en el periodo de estudio. De ellos 945 (89,2%) fueron mujeres y 114 varones (10,8%).

6.1.2. Distribución por edad

En relación con la edad, la media de edad de los pacientes atendidos fue de 47,9 años con una SD de 14,5 años y un IC 95% (47,0 - 48,8). La edad mínima de los pacientes fue de 15 y la máxima de 91 años.

Tabla 30. Datos disponibles de la variable Edad de la población atendida.

Edad en años	Válidos		Perdidos		Total	
	N	%	N	%	N	%
	1042	98,4%	17	1,6%	1059	100%

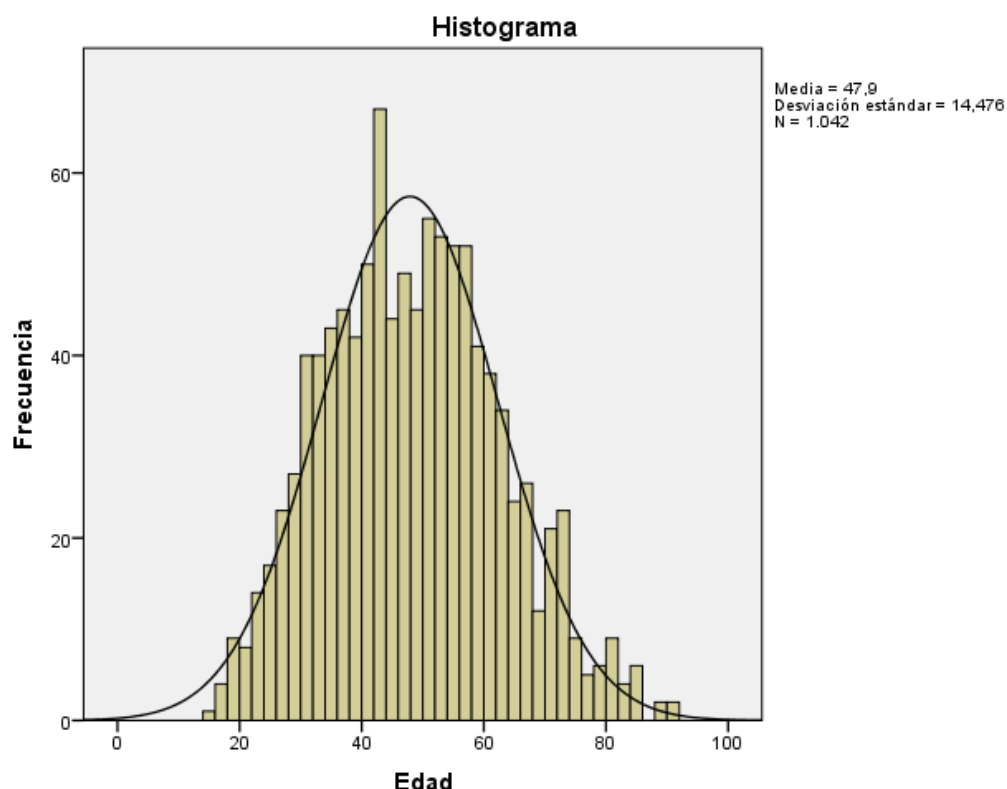


Ilustración 38. Histograma de frecuencias de la variable Edad de la población atendida

La distribución de la variable edad en la población no sigue una distribución normal según el test de Kolmogorov Smirnov ($P=0,0279$)

Existe una mayor frecuencia de edades comprendidas entre los 30 y los 60 años. Destaca un pico entre los 40-45 años que corresponde con periodo premenopáusicas.

6.1.3. Distribución por procedencia

Los pacientes son derivados a la consulta de cáncer familiar desde AP o desde AE. El 31,4% de los pacientes (333) fueron derivados desde AP y el 68,6% (726) desde AE. Estos resultados muestran que la mayor parte de las pacientes atendidas en consulta son derivadas desde atención especializada.

6.2. Características de susceptibilidad genética generales

6.2.1. Distribución por historia personal y familiar

Se dispone de los antecedentes personales de la totalidad de pacientes atendidos en la consulta dividiéndose en 501 sanos (47,3%), 537 (50,7%) afectados de cáncer de mama/ovario y otros cánceres 21 (2%). Estos últimos hacen referencia a otro tipo de cánceres diferentes del de objeto de estudio, pero relacionados genéticamente como el cáncer de próstata en los varones o bien a otros cánceres que han padecido familiares que acuden a la consulta pero que pertenecen a familias con historia familiar de cáncer de mama u ovario hereditario. Según esto podemos decir que nuestra población de estudio es equilibrada en cuanto a sanos y afectados.

Otra distribución necesaria es la que clasifica a las pacientes en casos índices (502, 47%) frente a los casos familiares (557, 53%) de manera que se identifica en cada familia la persona afecta más idónea para la realización del estudio genético en caso de que cumpla los criterios clínicos de riesgo (caso índice).

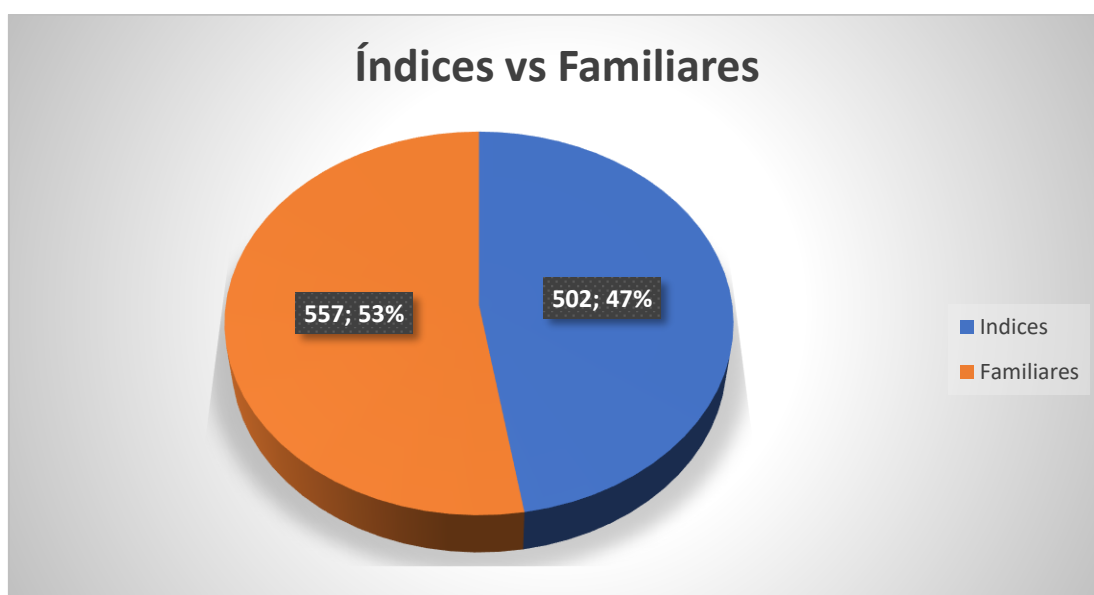


Ilustración 39. Casos índices vs familiares

Podemos ver que ambos grupos son muy homogéneos destacando un ligero aumento de familiares atendidas en consulta.

6.2.2. Distribución por clasificación clínica del riesgo pretest

Si analizamos la distribución de la población según los criterios clínicos de riesgo obtenemos que el 72,3% (766) corresponden a pacientes de alto riesgo de susceptibilidad a síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario, el 13,9% (147) corresponde a moderado riesgo y el 13,8% (146) a riesgo bajo.

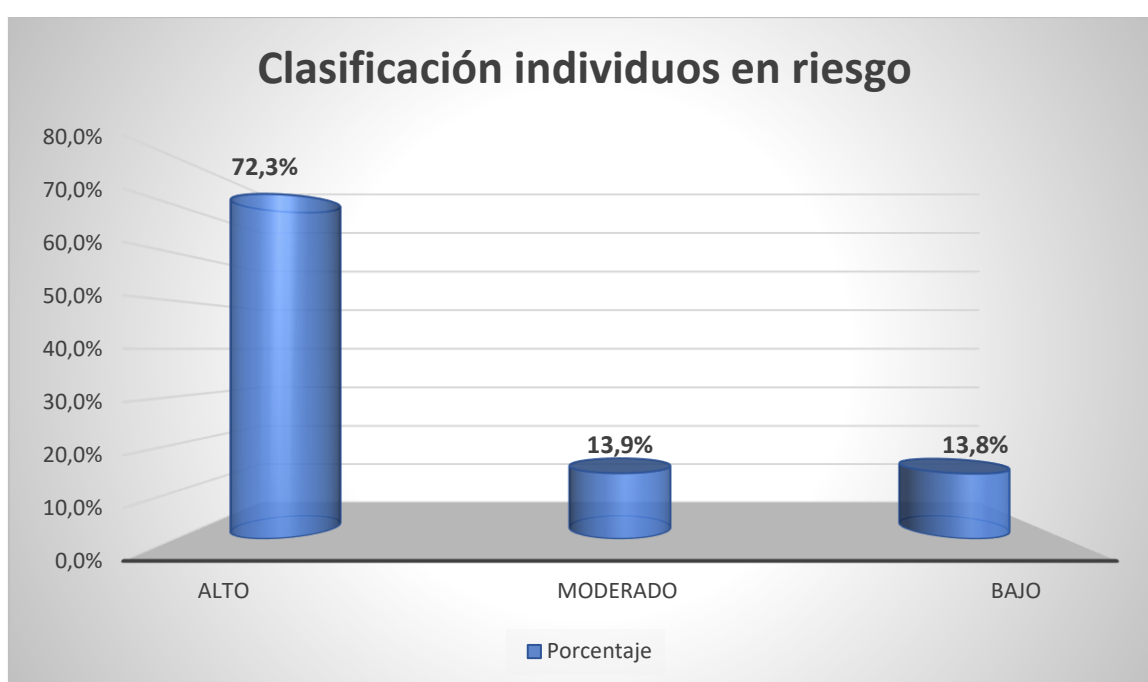


Ilustración 40. Distribución por estimación de riesgo según criterios clínicos.

Puesto que desde el 2005 hasta el 2015 se disponía de los criterios proporcionados por la CAM y en 2015 se establecieron los criterios de la SEOM se analizan si existen diferencias estadísticamente significativas en las frecuencias de los distintos grupos de riesgo en ambos periodos.

Se observan diferencias estadísticamente significativas ($X^2= 6,85$ $p=0,009$, χ^2 cuadrado de tendencia lineal) entre la clasificación del riesgo según los criterios utilizados y cómo podemos ver en la Ilustración 41 destaca el incremento

en la clasificación de pacientes de moderado riesgo con el uso de la guía clínica de la SEOM 2015.

Tabla 31. Distribución de frecuencias en los grupos de riesgo según criterios clínicos utilizados.

RIESGO	GUIA CLÍNICA CAM	GUIA CLÍNICA SEOM
	2005	2015
Alto	496	270
Moderado	70	77
Bajo	85	61
Total	651	408

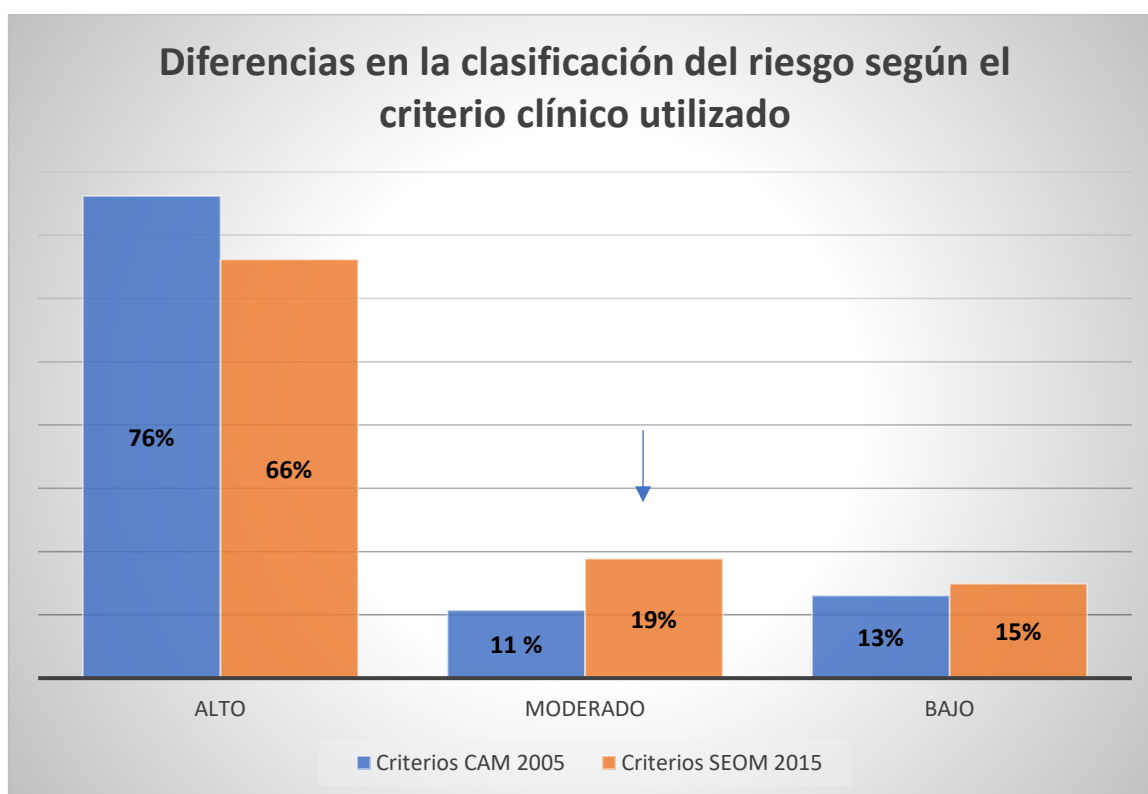


Ilustración 41. Diferencias en la clasificación del riesgo según la guía clínica utilizada.

6.2.3. Distribución por tipo de criterio clínico de alto riesgo

En la clasificación según la guía clínica de CAM 2005 la distribución del tipo de criterio de alto riesgo que se cumplía se muestra en la Ilustración 42 y la tabla 36, la clasificación según la guía clínica de la SEOM 2015 se muestra en la tabla 32 a continuación.

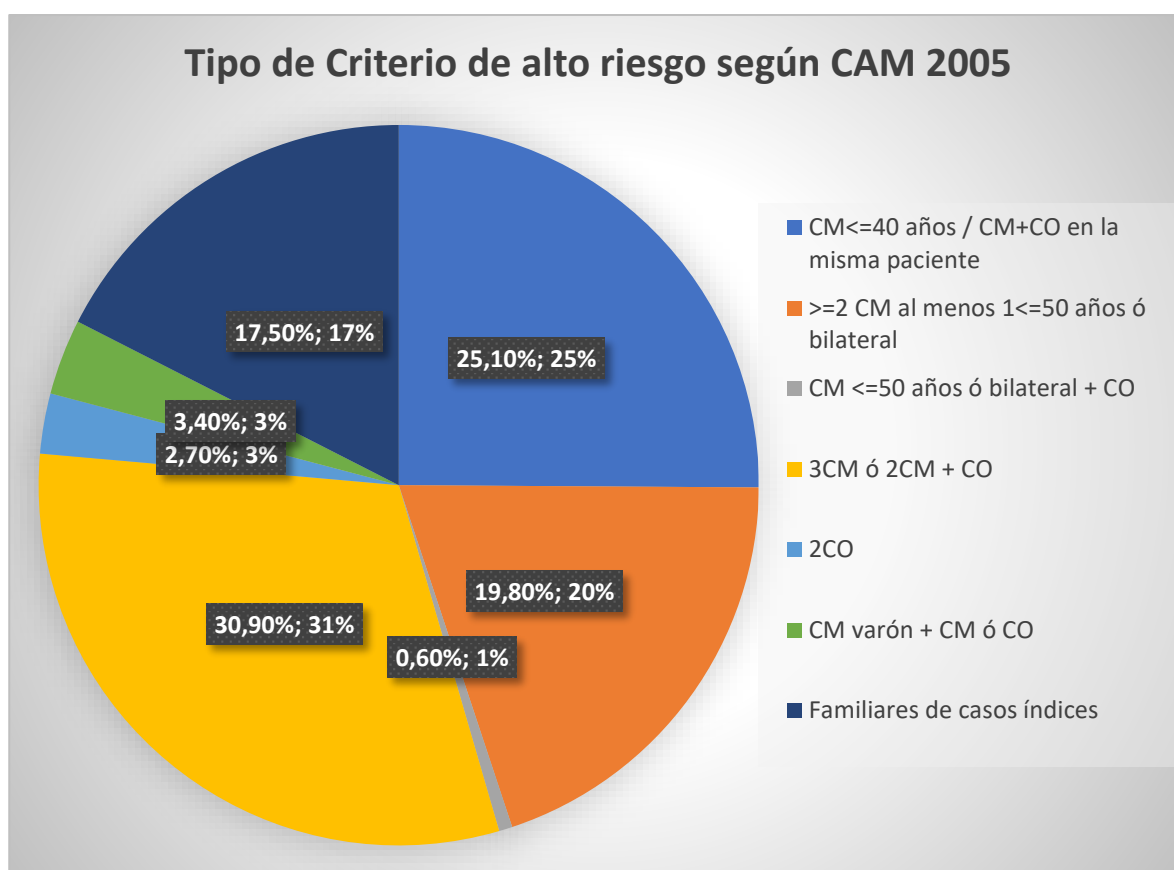


Ilustración 42. Tipo de Criterio de alto riesgo de cáncer de mama (CM) y ovario (CO) hereditario según CAM 2005.

Tabla 32. Frecuencias según tipo de criterio de alto riesgo según guía CAM 2005.

Criterio CAM 2005 alto riesgo	Frecuencia	Porcentaje
CM ≤ 40 años / CM+CO en la misma paciente	119	25,1%
≥ 2 CM al menos 1 ≤ 50 años o bilateral	94	19,8%
CM ≤ 50 años o bilateral + CO	3	0,6%
3CM o 2CM + CO	146	30,9%
2CO	13	2,7%
CM varón + CM o CO	16	3,4%
Familiares de casos índices de alto riesgo	94	17,5%
Total	485	100%

Hay 9 pacientes que serían clasificados de alto riesgo, con los criterios de la SEOM, por padecer CM triple negativo, tener menos de 50 años y sin historia familiar de CM y que con los criterios de 2005 no están incluidas. Sin embargo, en ninguna de ellas se detectó variante genética en *BRCA 1* ni *BRCA2*.

Tabla 33. Frecuencia de tipo de criterio de alto riesgo según guía clínica SEOM 2015.

Criterio SEOM 2015	Frecuencia	Porcentaje
<i>Independientemente de la historia familiar:</i>		
<i>CM y CO sincrónico o metacrónico</i>	10	3,7%
<i>CM ≤ 35 años (≤ 40 años en familias no informativas)</i>	44	16,3%
<i>CM bilateral (el primero ≤ 40 años)</i>	4	1,5%
<i>CM triple negativo ≤ 50 años</i>	10	3,7%
<i>CO epitelial no mucinoso de alto grado (o de trompa o primario peritoneal)</i>	3	1,1%
<i>Con historia de 2 o mas familiares de primer grado con cualquier combinación de los siguientes patrones de alto riesgo:</i>		
<i>CM bilateral + CM < 50 años</i>	18	6,7%
<i>CM varón</i>	2	0,7%
<i>CM y CO</i>	7	2,6%
<i>2 CM < 50 años</i>	31	11,5%
<i>Con historia de 3 o mas familiares directos con CM y/u ovario:</i>		
<i>≥ 3 CM +/- CO</i>	77	28,5%
<i>Familiares de casos índices de alto riesgo</i>	64	23,7%
<i>Total</i>	270	100%

En ambos periodos y con ambos criterios se observa que la población de estudio con criterio de alto riesgo se compone mayoritariamente de casos con más de 3 CM en la familia seguido del grupo de pacientes que presentan CM < 35 o 40 años respectivamente.

6.2.4. Distribución según procedencia y criterio de riesgo

Si desglosamos la clasificación de las pacientes según los criterios clínicos de riesgo en función de la procedencia de la que viene derivada la paciente, podemos observar que existen diferencias estadísticamente significativas ($X^2=37,99$, $p<0,000$). Dichas diferencias se hacen evidentes en las pacientes de alto y moderado riesgo, las cuales en mayor proporción son derivadas desde AE (respectivamente 71,9%, 72,8%) y por otro lado las pacientes clasificadas de bajo riesgo son derivadas con mayor frecuencia desde AP (53,4%).

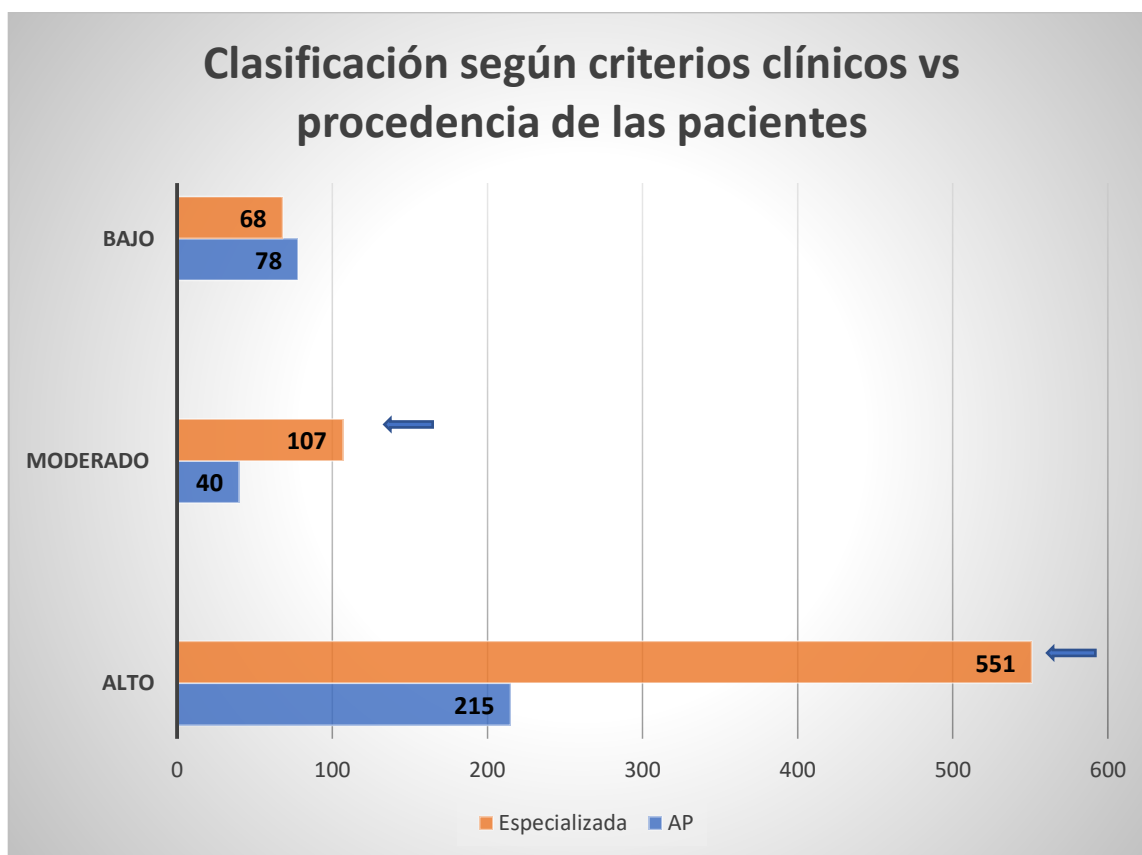


Ilustración 43. Clasificación según criterios clínicos vs procedencia.

6.2.5. Distribución por resultado del análisis de *BRCA1/BRCA2*

Analizando los resultados de la prueba genética realizado a los casos de alto riesgo que no rechazaron el estudio (696, 90,9%) se detectó variante genética en el 29,9% (208) de los estudios realizados. En el 70,1% (488) restante no se detectaron variantes en estos dos genes.

El desglose de las variantes detectadas en cada gen se muestra en el análisis individualizado de casos índices y familiares.

6.3. Características de los casos índices

6.3.1. Distribución según variables demográficas y de riesgo

De los 114 varones 20 (32,5%) son casos índices afectados de cáncer de mama o de próstata los cuales constituyen datos perdidos para las variables de menarquia, paridad, número de hijos, edad del primer parto, lactancia materna y para el uso de anticonceptivos orales. Estos datos se muestran en la ilustración 44 y Tabla 34. Las variables edad y edad de diagnóstico se disponen del 99%(498) y 98%(494) de los pacientes, la variable menarquia y número de hijos del 68% (342) y 66% (331) respectivamente y la variable edad del primer parto del 43% (216) de los casos índices. La lactancia materna solo se dispone del 35% (180) de los casos. De los 331 casos en los que se dispone la información del número de hijos el 27,2% (90) eran nuligestas. De las pacientes con descendencia la mayor parte tenían dos hijos 36,3% (120) y el 86% (155) de las pacientes de las que se dispone la información alimentaron con lactancia materna.

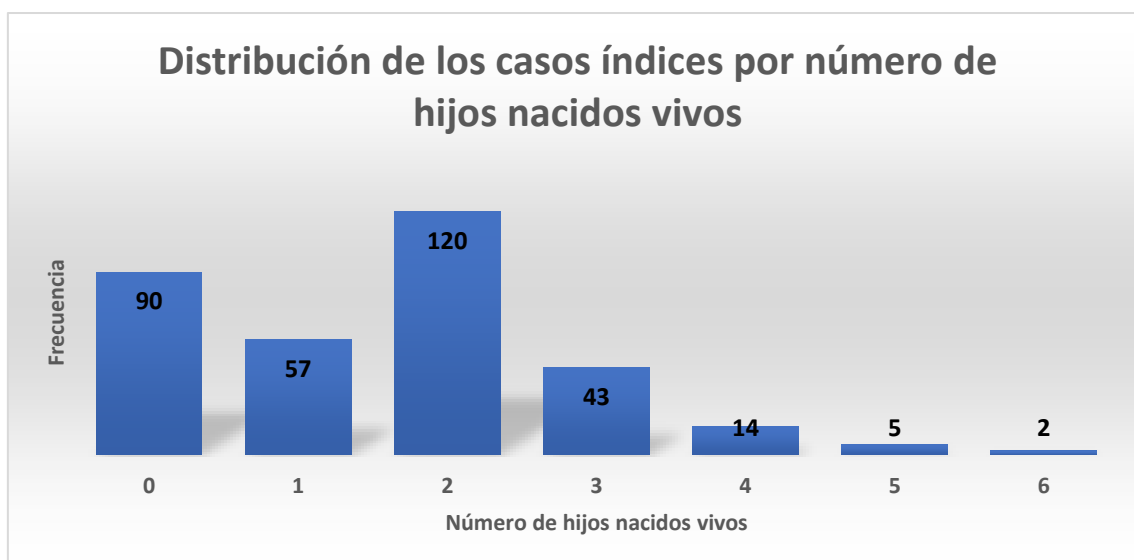


Ilustración 44. Distribución de los casos índices según paridad.

Tabla 34. Principales características de los casos índices

Característica	Media (rango)
<u>Edad (años)</u>	53,0 (28-90)
<u>Menarquia (años)</u>	12,6 (9-21)
<u>Número de hijos nacidos vivos</u>	1,6 (0-6)
<u>Edad del primer parto</u>	27,2 (16-45)
<u>Edad de diagnóstico</u>	46,8 (17-89)

Respecto a la edad de diagnóstico del cáncer la media es de 46,8 años donde destaca una mayor frecuencia de casos índices con edades de diagnóstico menores de 49 años correspondiendo a edades premenopáusicas. La distribución es normal según el test de Kolmogorov Smirnov ($p < 0,000$) ver ilustración 45.

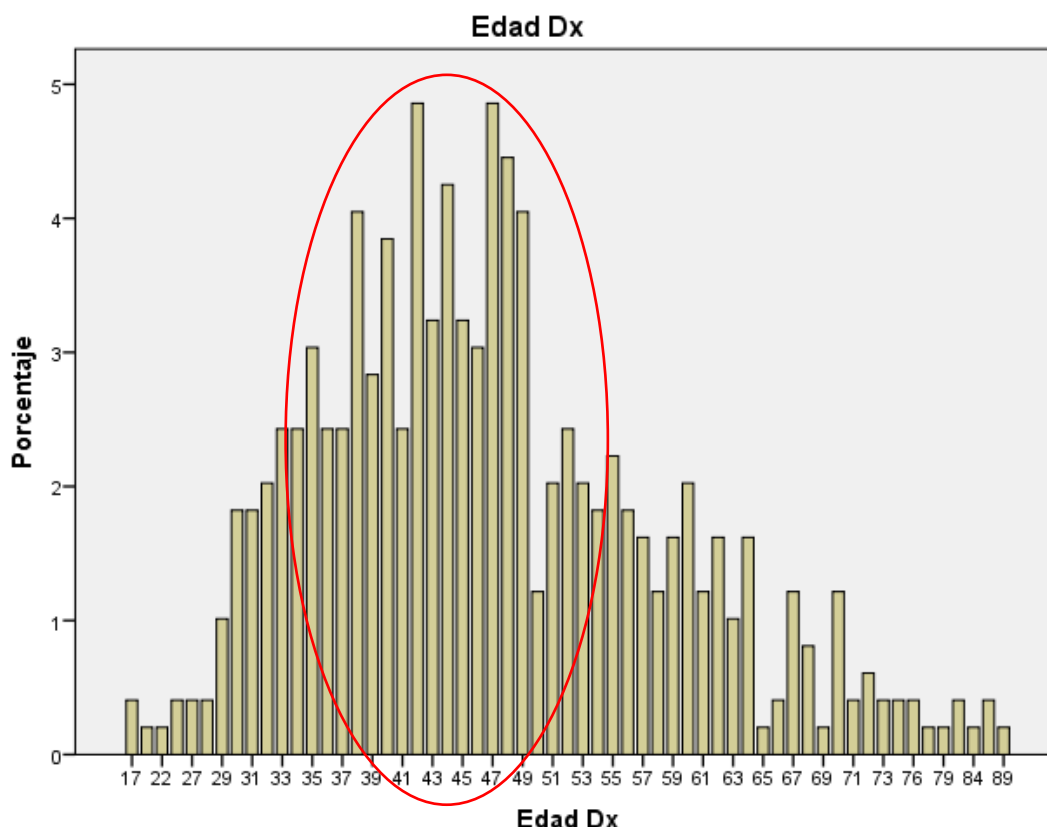


Ilustración 45. Distribución de los casos índices según edad de diagnóstico

6.3.2. Distribución según criterio clínico de riesgo

Con independencia de los criterios clínicos utilizados (CAM 2005 y SEOM 2015) el 90% de los casos índices (455) cumplían criterios de alto riesgo y por tanto se les indicó la posibilidad de realizar el estudio genético de *BRCA1* y *BRCA2*. Un 9% de los casos (46) cumplían criterios de moderado riesgo para los que no procedió la realización de la prueba genética.

Destaca un predominio del tipo de criterio de alto riesgo de 2 CM<50 años (27,1%,136) y 3CM (30,5%,153) seguido de CM<35 años (16,2%, 81).

6.3.3. Distribución según características del tumor

El 94,6% (475) de los tumores detectados fueron de mama invasivos predominando los unilaterales (82%), ductales (91%, 423) e infiltrantes (71,7%). (Ver ilustración 46 y 47 y tabla 35).

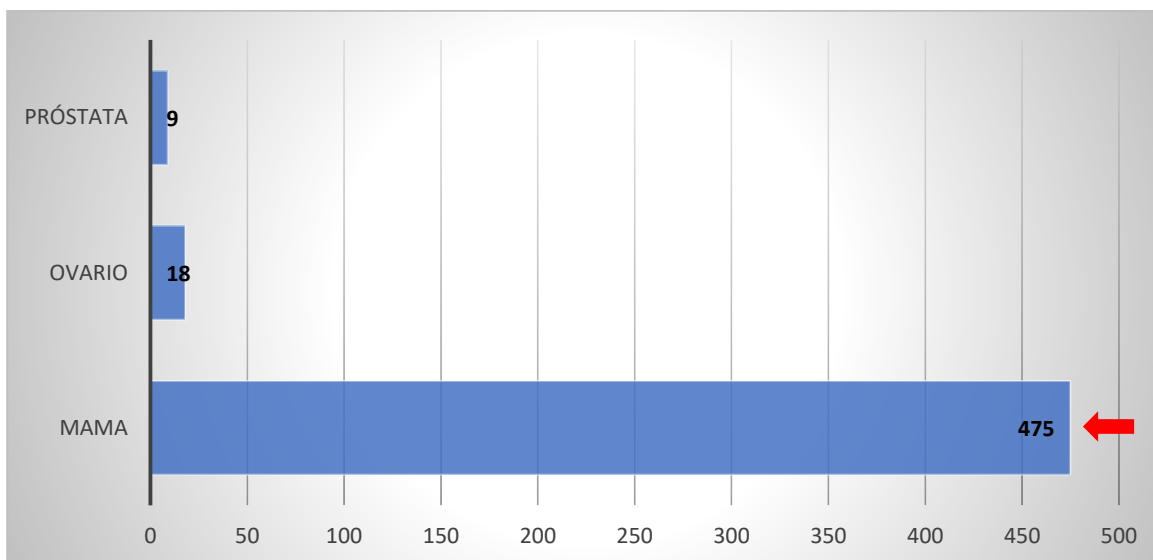


Ilustración 46. Distribución de los casos índices según tipo de tumor diagnosticado

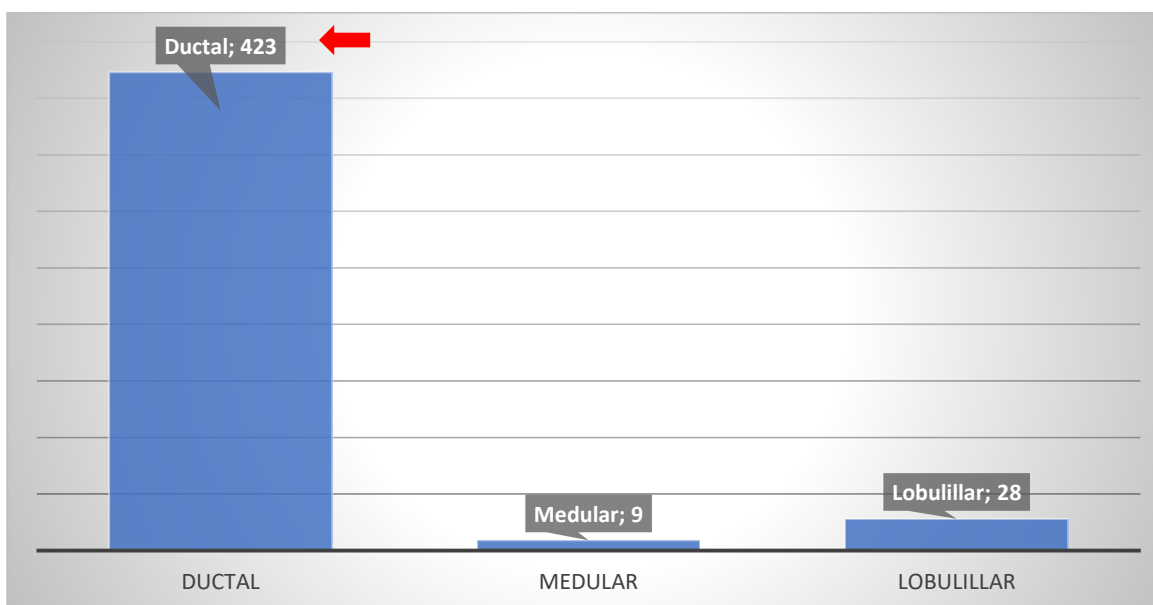


Ilustración 47. Distribución según tipo histológico de cáncer de mama en los casos índices.

En relación al estatus de receptores hormonales y HER2 el subtipo más frecuente fue el de receptores hormonales positivos o tipo Luminal A (Receptor Estrogénico (RE) 66,7%, Receptor de Progesterona (RP) 59,4%) y HER2 negativo (69,6%)

seguido de el de receptores hormonales negativo o tipo Luminal B (RE 31,4%, RP 38,5%) y HER2 positivo (26%) como se muestra en la ilustración 48.

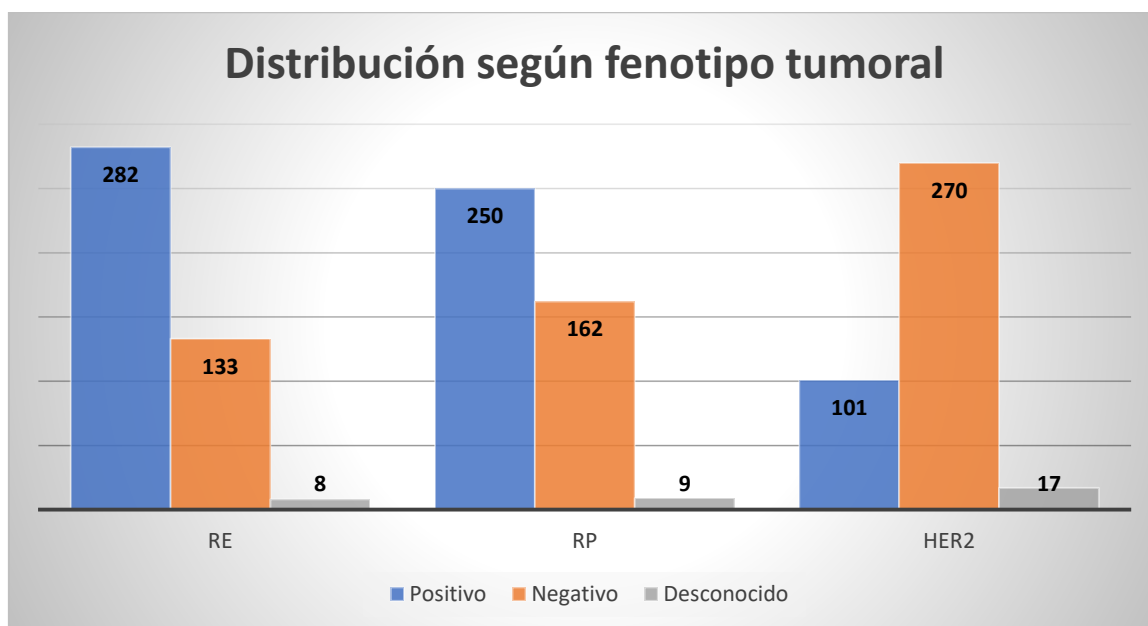


Ilustración 48. Distribución de los casos índices según perfil inmunohistoquímico.

Tabla 35. Resumen de las principales características del tumor en casos índices.

<u>CARACTERÍSTICAS DEL TUMOR</u>	<u>N(%)</u>
<u>Tipo de tumor</u>	
Mama	475 (94,6%)
Ovario	18 (35,9%)
Próstata	9 (1,8%)
<u>Lateralidad</u>	
Mama Unilateral	388(82%)
Mama Bilateral	87(18%)
<u>Tipo Histológico</u>	
Ductales	423 (91,9%)
Medulares	9 (2%)
Lobulillares	28 (6,1%)
<u>Infiltración</u>	
Si	360 (80%)
No	38 (8,7%)
Infiltrante/in situ	31 (6,9%)
Desconocido	20 (4,4%)

Fenotipo tumoral**RE**

Positivo

282 (66,7%)

Negativo

133 (31,4%)

Desconocido

8 (1,9%)

RP

Positivo

250 (59,4%)

Negativo

162 (38,5%)

Desconocido

9 (1,8%)

HER2

Positivo

101 (26%)

Negativo

270 (69,6%)

Desconocido

17 (3,4%)

6.3.4. Desarrollo de otros tumores posteriores

El 11,2% de los casos índices desarrolló un segundo cáncer que con mayor frecuencia se trató de cáncer de mama lobulillar (5%) en las mujeres y de cáncer de próstata (2%) en los varones (Ver ilustración 49)

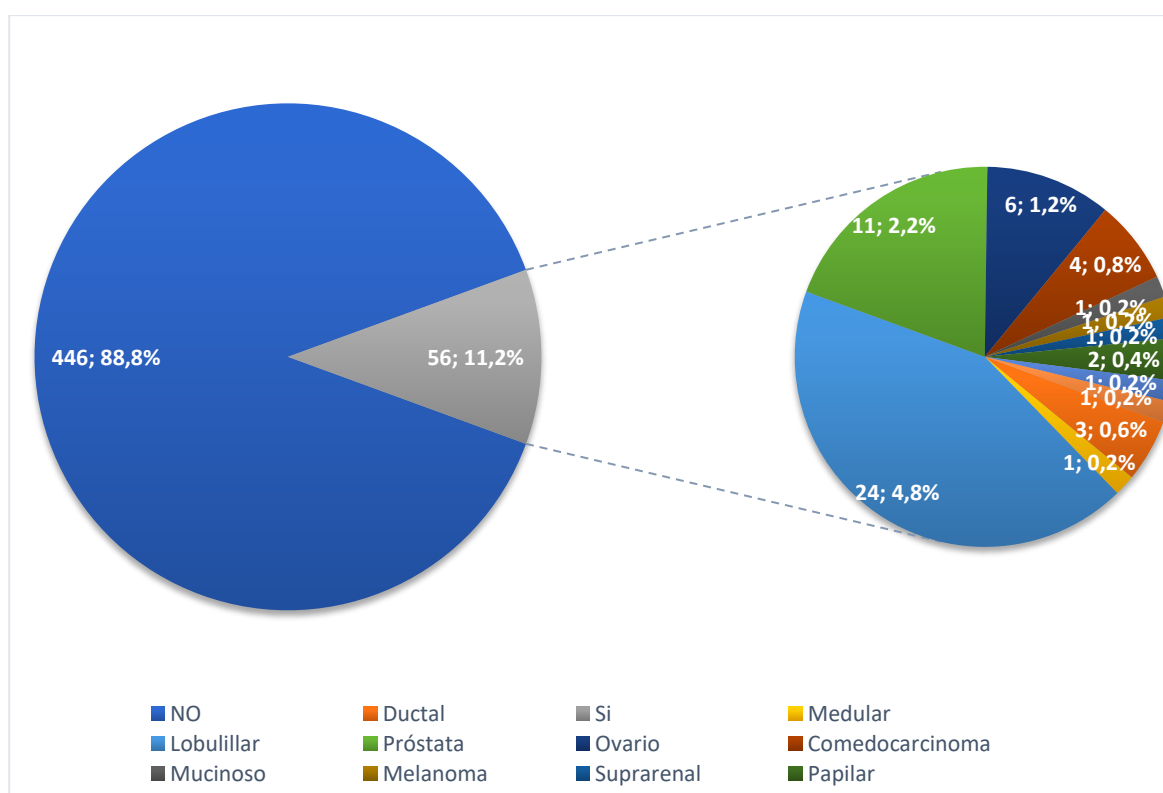


Ilustración 49. Distribución según el desarrollo y tipo de cáncer posterior.

6.3.5. Análisis de los resultados de la prueba genética de *BRCA1/BRCA2*

Se detectó variante genética en *BRCA1 /BRCA2* en 109 (24%) casos índices frente a 284 (62,4%) en los que no se detectó variante alguna y 52 (11,4%) rechazaron su realización de los 455 casos índices de alto riesgo.

La distribución de las variantes detectadas fue como se muestra en la Ilustración 50 donde cabe destacar que las variantes patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2* en total suponen el 46,8% (51) de las variantes detectadas. Las variantes patogénicas o probablemente patogénicas se describen en la tabla 36.

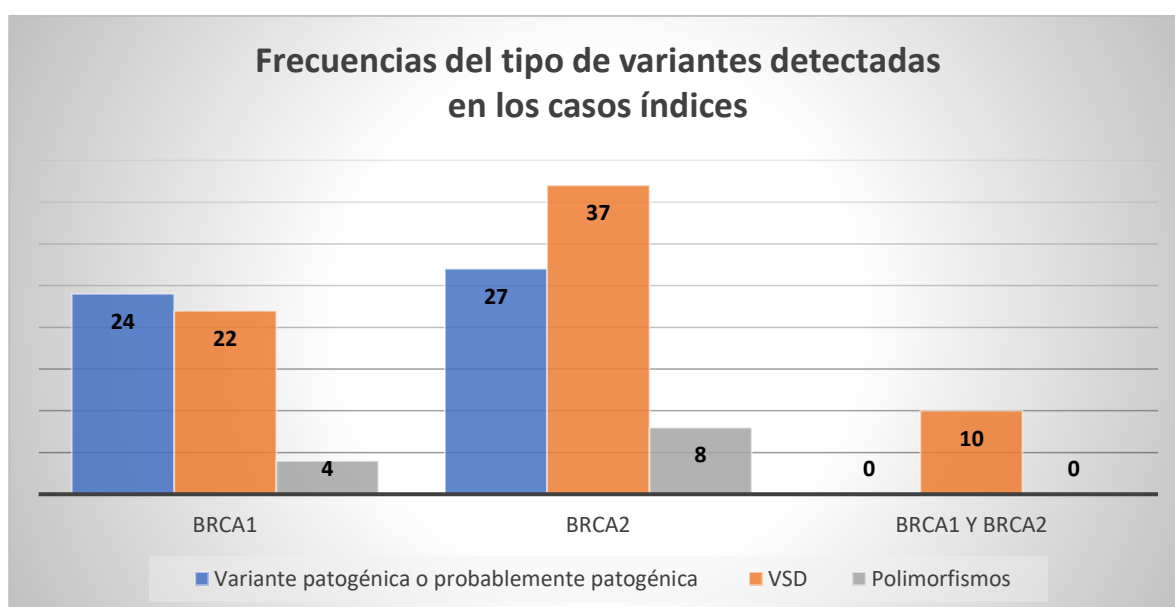


Ilustración 50. Tipo de variantes detectadas tras el análisis de *BRCA1/BRCA2*

Tabla 36. Descripción de las variantes patogénicas en *BRCA1/BRCA2*.

GEN	RS	HGVS coding	HGVS protein
BRCA1	rs80357145	c.3239T>A	L1080* (p.Leu1080Ter)
BRCA1	rs28897696	c.5123G>T	A1708E (p.Ala1708Glu)
BRCA1	rs80358137	c.5216-1G>A	
BRCA1	rs80356860	c.5117G>A	G1706E (p.Gly1706Glu)
BRCA1	rs62625308	c.3607C>T	R1203* (p.Arg1203Ter)
BRCA2	rs80359756	c.9310_9311delAA	K3104Vfs*6 (p.Lys3104ValfsTer6)
BRCA1	rs80357914	c.68_69del	p.Glu23ValfsX17
BRCA2	rs80359406	c.4082delA	p.E1285Efs*8
BRCA1	rs80356898	c.1687C>T	Q563* (p.Gln563Ter)

<i>BRCA2</i>		c.8988_8990delATAinsAA	p.Leu2996fs	
<i>BRCA1</i>	rs62625307	c.3598C>T	(p.Gln1200X)	
<i>BRCA2</i>	rs80359212	c.9382C>T	(p.Arg31128X)	
<i>BRCA1</i>	rs80358124	c.5152+3A>C		
<i>BRCA2</i>	rs11571658	c.6275_6276delTT	L2092Pfs*7 (p.Leu2092ProfsTer7)	
<i>BRCA2</i>	rs397508026	c.8978_8991del	S2993Ffs*20 (p.Ser2993PhefsTer20)	
<i>BRCA1</i>	rs55770810	c.5095C>T	R1699W (p.Arg1699Trp)	
<i>BRCA1</i>		delE8-13		
<i>BRCA1</i>		c.5155_5156delGTinsTA	V1719* (p.Val1719Ter)	
<i>BRCA2</i>	rs80358711	c.4889C>G	S1630* (p.Ser1630Ter)	
<i>BRCA2</i>	rs80358838	c.6025C>T	Q2009* (p.Gln2009Ter)	
<i>BRCA2</i>	rs431825350	c.715dup	(p.Ser239fs)	
<i>BRCA1</i>	rs80357382	c.211A>G	R71G (p.Arg71Gly)	
<i>BRCA2</i>	rs201523522	c.171C>G	Y57* (p.Tyr57Ter)	
<i>BRCA1</i>		c.5152+4A>T		
<i>BRCA2</i>	rs431825292	c.2091dupA	L698Tfs*10 (p.Leu698ThrfsTer10)	
<i>BRCA2</i>	rs80359584	c.6405_6409delCTTAA	N2135Kfs*3 (p.Asn2135LysfsTer3)	
<i>BRCA2</i>	rs397507701	c.4005dupA	F1336Ifs*2 (p.Phe1336IlefsTer2)	
<i>BRCA1</i>		c.3282T>A	Y1094* (p.Tyr1094Ter)	
<i>BRCA2</i>	rs80359741	c.9026_9030delATCAT	(p.Tyr3009Serfs*7)	
<i>BRCA2</i>	rs80359283	c.1389_1390delAG	V464Gfs*3 (p.Val464GlyfsTer3)	
<i>BRCA2</i>	rs886040737	c.7984dupA	T2662Nfs*4 (p.Thr2662AsnfsTer4)	
<i>BRCA2</i>	rs80358429	c.1414C>T	Q472* (p.Gln472Ter)	
<i>BRCA2</i>	rs28897756	c.9117G>A	P3039= (p.Pro3039=)	
<i>BRCA1</i>	rs80357239	c.5154G>A	W1718* (p.Trp1718Ter)	

Nada desdeñable es la cantidad de VSD detectadas que en 4 casos acompañaban a una variante patogénica, pero en 75 casos el estudio resultó no informativo por no existir en el momento evidencia científica suficiente para conocer su relevancia clínica.

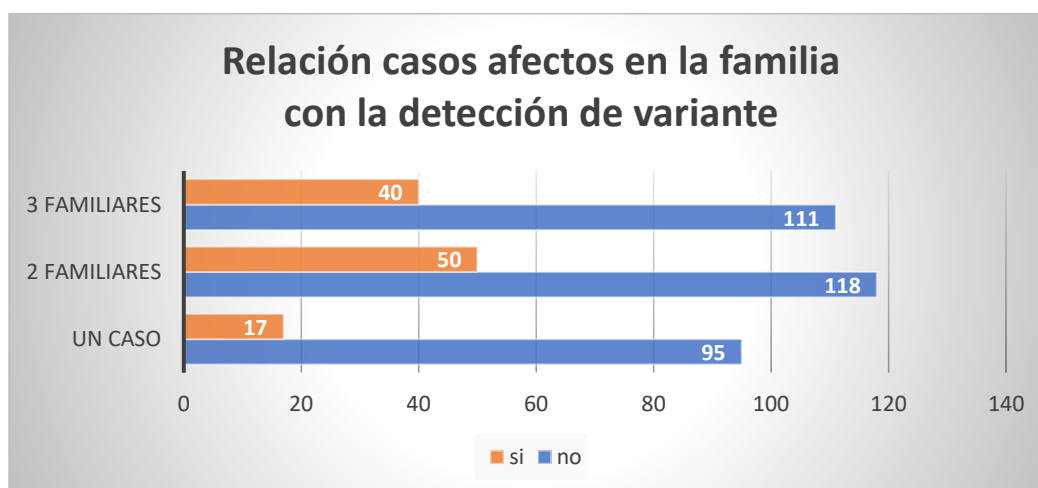
Un análisis posterior de estas VSD reclasifica la mayor parte de ellas 84% (58 casos) como probablemente benignas o benignas quedando como VSD en la actualidad las descritas en la tabla 37.

Tabla 37. Descripción de las VSD.

GEN	RS	HGVS CODING	HGVS PROTEIN
BRCA2		c.6928 A>C	p.Thr2310Pro
BRCA2		c.9004 G>A	Glu3002Lys
BRCA2	rs206076	c.6513G>A	V2171= (p.Val2171=)
BRCA2		c.1365 A>G	p.Ser455Se
BRCA2		c.7976+5G>T	IVS17+5G>T
BRCA2		c.7435+8A>G	IVS14+8A>G
BRCA2	rs751787816	c.8971C>T	R2991C (p.Arg2991Cys)
BRCA2	rs80359105	c.8525G>T	R2842L (p.Arg2842Leu)
BRCA1		c.1276T>G	S426A (p.Ser426Ala)
BRCA2		c.3883C>A	p.Gln1295Lys

Se actualizó el significado de las (69) VSD detectadas y se reclasificaron 58 como benignas y una como patogénica (c.8590_8592delGCC (A2864del, p.Ala2864del) en BRCA2). Continuaron siendo VSD (10).

La asociación entre la detección de variante y el número de casos afectados en la familia mostró significancia estadística ($X^2=8,003$ $p<0,018$) mostrando una mayor frecuencia de detección de variantes en los casos de 2 familiares afectados (ver ilustración 51)

**Ilustración 51.** Distribución de los casos índices según la relación entre la detección de variante y el número de casos afectados en la familia.

Respectivamente fue más frecuente detectar variantes en los casos de cáncer de ovario (35,3%) seguido de los casos de cáncer de mama bilateral (28,8%) y por

último de los casos de mama unilateral (22,3%) sin encontrar significancia estadística ($p=0,221$). Hay que recordar que los distintos tipos de cáncer no son grupos homogéneos en nuestra población de estudio (predomina una mayor frecuencia de los unilaterales).

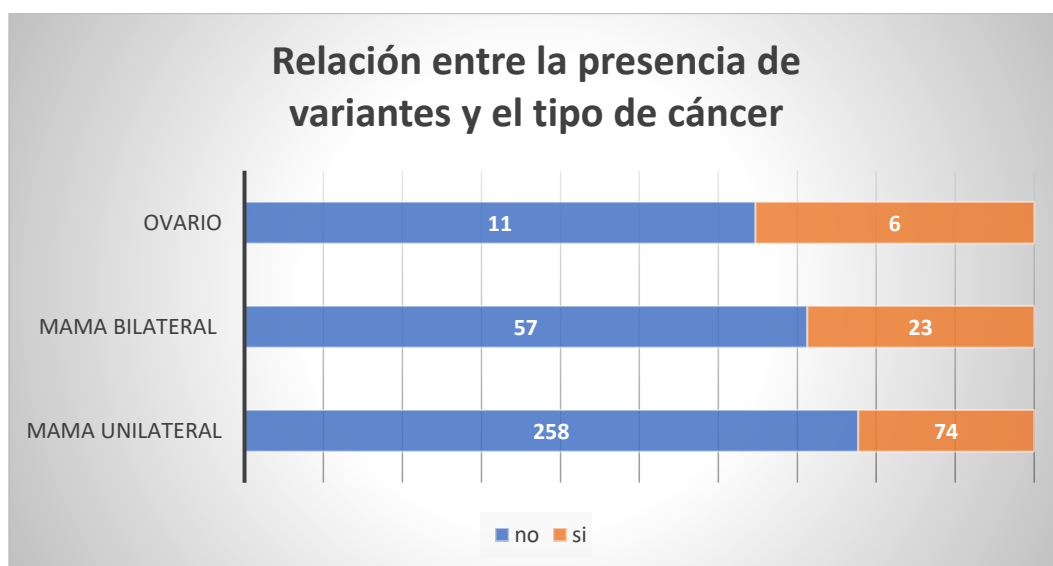


Ilustración 52. Distribución de los casos índices según la relación entre la detección de variante y el tipo de cáncer.

6.4. Características de los estudios familiares

6.4.1. Distribución según variables demográficas

En la distribución por género en los casos familiares es superior el porcentaje de varones que acuden a la consulta de genética respecto al análisis de la población general, sin desglosar casos índices de familiares, atendida (17% vs 11%). La edad media fue de 43,2 años (15,0-91,0).

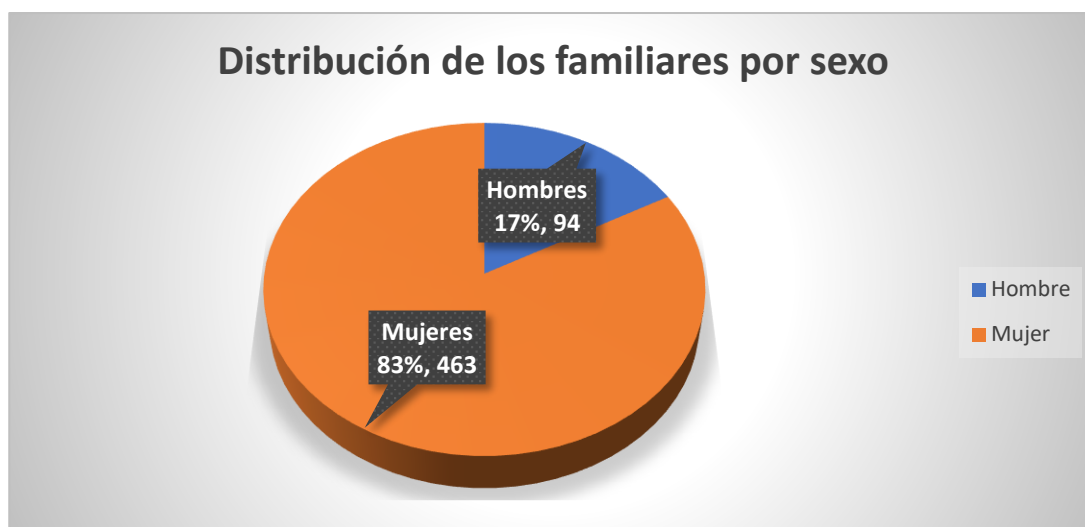


Ilustración 53. Distribución de los familiares por sexo.

6.4.2. Distribución según historia personal y características del tumor

De todos los casos familiares el 9,2% (51) eran afectos de cáncer y el 90,8% (506) estaban sanos en el momento en el que acudieron a la consulta de genética.

La distribución de los distintos tipos de cáncer en los afectos, así como las características de estos cánceres se describe a continuación.

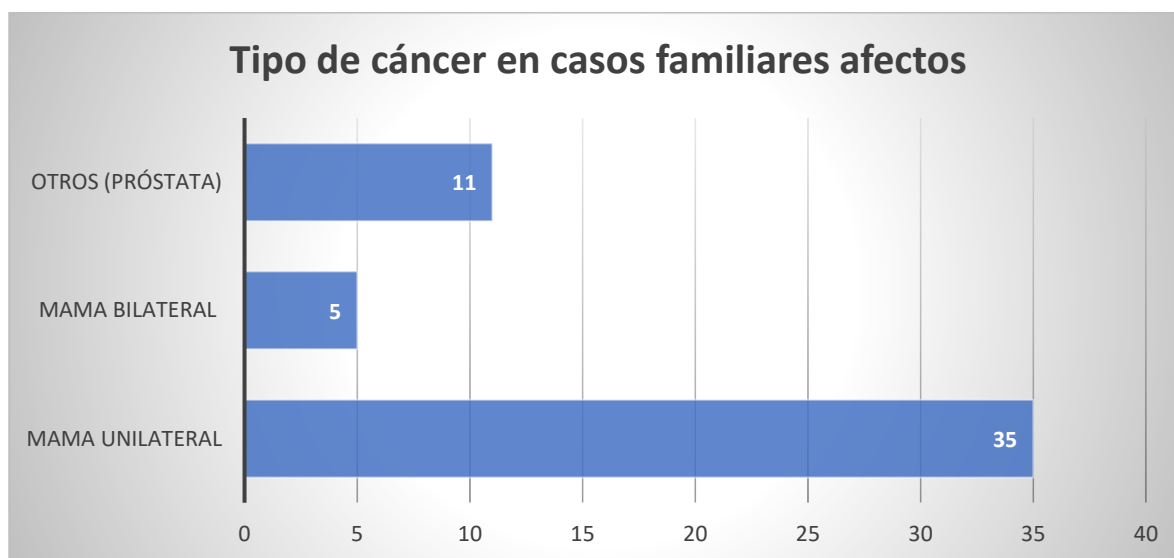


Ilustración 54. Distribución según tipo de cáncer en familiares afectos.

De los casos familiares de mama afectos predominan los de tipo ductal (66,7%, 34) infiltrante y con fenotipo tumoral de receptores hormonales positivos (RE

80%, 24 y RP 63,3%, 19 de los 30 de los que se dispone dicha información) y Herb2 negativo 59,3% (16 de los 27 casos que disponen de información sobre este receptor).

6.4.3. Distribución según criterio clínico de riesgo

Con independencia de los criterios clínicos utilizados (CAM 2005 y SEOM 2015) el 55,8% (311) cumplían criterios de alto riesgo y por tanto se les indicó la realización de la prueba genética. El 18,1% (101) de moderado riesgo y el 26% (145) de bajo riesgo.

6.4.4. Análisis de los resultados de la prueba genética de *BRCA1/BRCA2*

El 32 % de los familiares de alto riesgo (99) presentaron una variante genética tras el estudio de los genes *BRCA1/BRCA2*. En familiares solo se detectó una VSD el resto eran variantes patogénicas ya incluidas en la tabla 38.

El 6% de los familiares de alto riesgo (18) rechazó la realización del estudio. En el resto (62%, 194) el estudio resultó negativo para variantes en *BRCA1* y *BRCA2*.

6.4.5. Análisis de portadores sanos

Del total de familiares portadores de variante en *BRCA1/BRCA2* (99) eran sanos (en el momento de ser atendidos en la consulta) el 79,7% (79).

La edad media de los portadores sanos fue de 42,7 años SD= 15,6 años (18-82).

El 93,6% (74) portaban una variante patogénica o probablemente patogénica cuya distribución entre los dos genes se muestra en la ilustración 55.

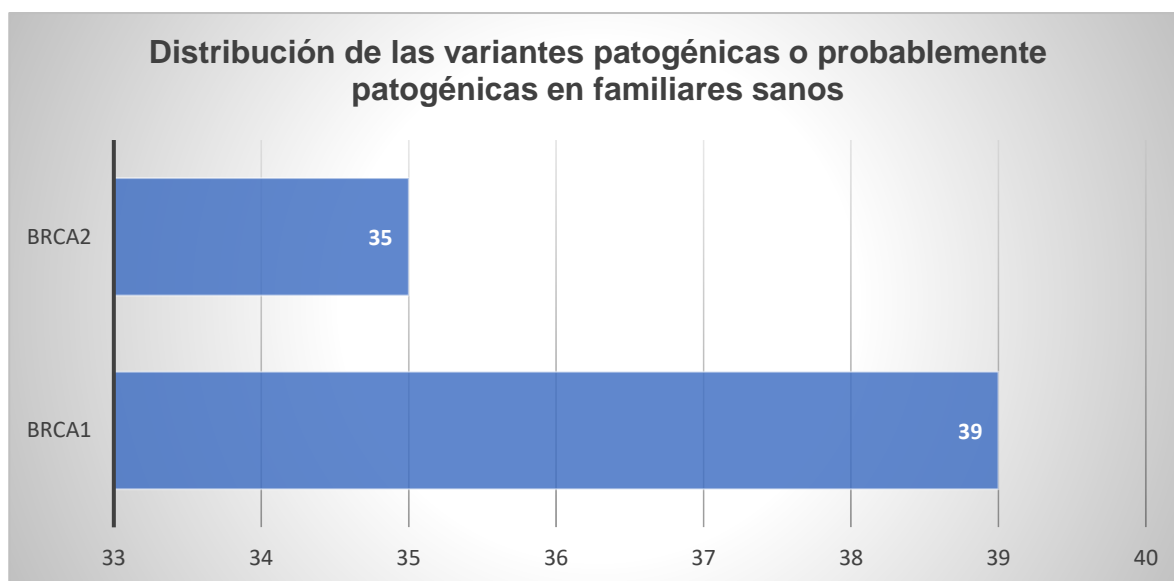


Ilustración 55. Distribución de variantes patogénicas o probablemente patogénicas en familiares sanos.

Las variantes patogénicas y probablemente patogénicas están incluidas en las descritas en la tabla 25.

La información sobre la realización, en portadores sanos, de cirugías profilácticas muestra que el 33,3% (7) realizó una cirugía profiláctica (ver ilustración 56) sin embargo hay que tener en cuenta que la disponibilidad de esta información es limitada 28,4% (21).

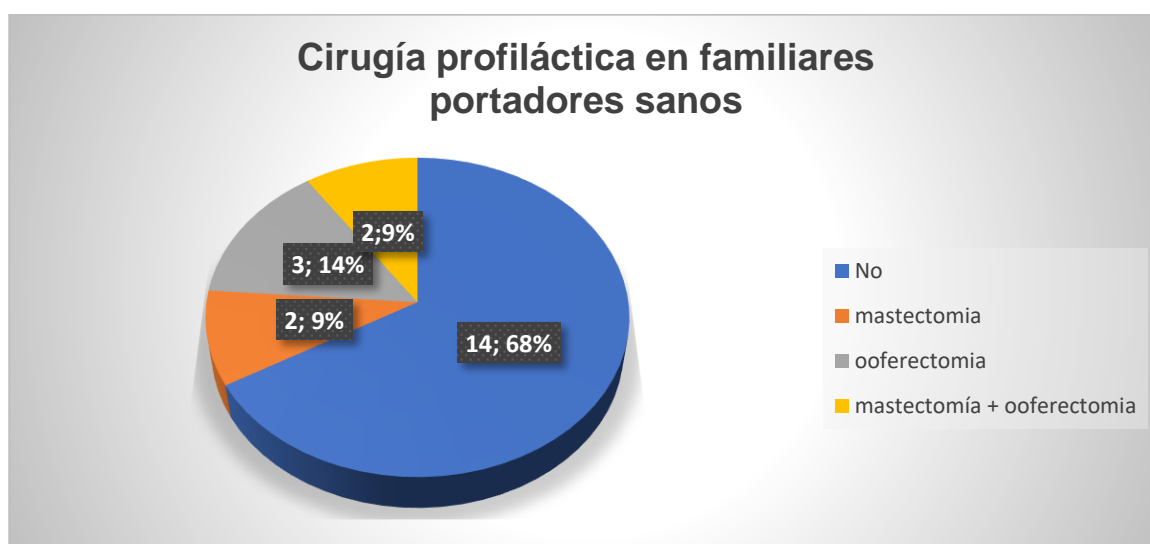


Ilustración 56. Elección sobre la opción de cirugía profiláctica en familiares portadores sanos.

6.5. Búsqueda de variantes en otros genes no *BRCA1/BRCA2*

Como hemos visto la prevalencia de detección de variantes en *BRCA1* y *BRCA2* en casos índices y casos familiares fue respectivamente 109 y 99 ($X^2 = 0,000234$ $p=0,98$) diferencias sin significación estadística lo cual recalca la importancia del estudio de familiares. Sin embargo, quedan un 70,1% de pacientes de alto riesgo clínico (488) sin detectar variantes en *BRCA1* y *BRCA2* para las que podría haber respuesta en otros genes.

6.5.1. Características de la muestra experimental

Se seleccionaron 47 pacientes todas ellas casos índices afectos de cáncer de mama, todas con criterios clínicos de alto riesgo, con historia familiar de más de dos o tres casos de cáncer de mama en la familia y resultado negativo para la búsqueda de variantes en *BRCA1* y *BRCA2*.

Se establecieron dos grupos en función de la edad de diagnóstico:

1. menor o igual a 50 años (27)
2. mayor o igual a 51 años (20).

La edad media de diagnóstico en el primer grupo fue de 43,8 años, SD= 5,32 años (31-50) y del segundo grupo la media fue de 57,7 años, SD=6,03 años (51-72). Las diferencias de edad entre ambos grupos son estadísticamente significativas $t=8,55$ (IC95%= 10,24-16,56) $p=0,0001$.

Las características del tumor y los criterios de riesgo en cada grupo de edad se muestran en la tabla 38.

Tabla 38. Características del tumor y de riesgo de la muestra experimental

	Grupo 1: ≤50 años (pacientes 1-22 y 34, 43,44,46 y 47)	Grupo 2: >50 años (pacientes 23-33, 35-42 y 45)	Significancia
Lateralidad			
Unilaterales	85,2%(23)	95% (19)	P=0,38 (Fisher)
Bilaterales	14,8% (4)	5%(1)	
Tipo histológico			
Ductal	96,3% (26)	88,9%(16)	P=0,55 (Fisher)
Otros(Papilar, Lobulillar)	3,7%(1)	11,1%(2)	
Fenotipo Tumoral			
RH positivos + Herb2 negativo	RE 69,6%(16) RP 56,5%(13)+ Herb2 70%(14)	RE 88,9%(16) RP 77,8%(14)+ Herb2 75%(12)	P=0,09 (Chi cuadrado)
RH negativos + Herb2 positivo	RE 30,4%(7) RP 43,5%(10) + Herb2 30%(6)	RE 11,1%(2) RP 22,2% (4)+ Herb2 25%(4)	
Edad media de menarquia	12,8 años (11-17)	12,5 años (11-14)	P=0,52 (t-test)
ACO			
Si	53,3% (8)	50% (7)	P=1,00 (chi cuadrado)
No	46,7% (7)	50% (7)	

Media del Nº de hijos	1,2 (0-4)	1,7 (0-5)	P=0,24 (t-test)
Edad media del primer parto	29,1 años (16-36)	29,4 años (19-45)	P=0,92 (t-test)
Menopausia			
Si	84,2% (16)	93,3% (14)	P=0,61 (Fisher)
No	15,8% (3)	6,7% (1)	
Lactancia materna			
Si	86,7% (13)	66,7% (8)	P=0,36 (Fisher)
No	13,3% (2)	33,4% (4)	
Nº casos afectados en la familia			
≤2	20% (5)	10% (2)	P=0,44 (Fisher)
3	80% (20)	90% (18)	

Las características tumorales y los criterios de riesgo son muy similares en ambos grupos de edad por lo que se puede asumir que son homogéneos.

Se pueden observar los árboles genealógicos de las 47 pacientes en el [Anexo III](#).

6.5.2. Análisis de las variantes detectadas en *BRCAX*

Se han detectado variantes en el 46,8% (22) de los 47 pacientes. Un 12,8% (6) de pacientes con variantes patogénicas o probablemente patogénicas y un 34,0% de pacientes con variantes de significado desconocido (16).

Las variantes se describen en la tabla 39 y 40.

Tabla 39. Variantes (patogénicas o probablemente patogénicas + VSD) procedentes del análisis de secuenciación masiva.

Paciente	Descrita en BBDD	Variante	Rs ID	Gen	Cigotidad	Clasificación
2	Si(1,2,3)	NM_001005735.1:c.1046G>C(p.Gly349Ala)	rs587780192	<i>CHEK2</i>	Heterocigosis	VSD
	Si(1,2,3)	NM_000534.4:c.605G>A(p.Arg202Lys)	rs2066459	<i>PMS1</i>	Heterocigosis	VSD
4	Si (2,3)	NM_002354.2:c.928A>G (p.Arg310Gly)	rs1171926285	<i>EPCAM</i>	Heterocigosis	VSD
5	Si(1,2,3)	NM_005228.4:c.2885G>A(p.Arg962His)	rs144496976	<i>EGFR</i>	Heterocigosis	VSD
7	Si (1,2,3)	NM_024675.3:c.34G>A (p.Glu12Lys),	rs765520187	<i>PALB2</i>	Heterocigosis	VSD
	Si(1,2,3)	NM_001005735.1:c.1685G>T (p.Arg562Leu)	rs587780180	<i>CHEK2</i>	Heterocigosis	VSD
9	Si (2,3)	NM_000122.1:c.1720C>T(p.Arg574Ter)	rs768687646	<i>ERCC3</i>	Heterocigosis	PATOGÉNICA
10	Si(1,2,3)	NM_004629.1:c.1642C>T(p.Arg548Ter)	rs779834525	<i>FANCG</i>	Heterocigosis	PATOGÉNICA
12	Si(3)	NM_000051.3:c.6733_6734delGA NM_001330368.1:c.641-16397_641-16396delCT		<i>ATM</i> <i>C11orf65</i>	Heterocigosis	PROBABLEMENTE PATOGÉNICA
	Si(1,2,3)	NM_001276760.1:c.730C>T (p.Arg244Cys)	rs149633775	<i>TP53</i>	Heterocigosis	VSD
	Si(1,2,3)	NM_001005735.1:c.275C>T (p.Pro92Leu)	rs779269031	<i>CHEK2</i>	Heterocigosis	VSD
15	Si (2,3)	NM_000059.3:c.3883C>A(p.Gln1295Lys)		<i>BRCA2</i>	Heterocigosis	VSD
	Si(1,2,3)	NM_144997.6:c.977C>T(p.Pro326Leu)	rs138031155	<i>FLCN</i>	Heterocigosis	VSD
16	Si(1,2,3)	NM_000038.5:c.2870A>G(p.Lys957Arg)	rs777881096	<i>APC</i>	Heterocigosis	VSD

20	Si(1,2,3)	NM_000534.4:c.605G>A(p.Arg202Lys)	rs2066459	<i>PMS1</i>	Heterocigosis	VSD
	Si(1,2,3)	NM_003000.2:c.269G>A(p.Arg90Gln)	rs570278423	<i>SDHB</i>	Heterocigosis	VSD
24	Si (1,2,3)	NM_000251.2:c.435T>G(p.Ile145Met)	rs63750124	<i>MSH2</i>	Heterocigosis	VSD
26	Si (2,3)	NM_000401.3:c.544C>T(p.Arg182Trp)	rs757297287	<i>EXT2</i>	Heterocigosis	VSD
29	Si (2,3)	NM_001042355.1:c.923C>T(p.Thr308Met)	rs200271412	<i>CYLD</i>	Heterocigosis	VSD
30	Si (1,3)	NM_000179.2:c.1168_1170delGATinsAA	rs863225398	<i>MSH6</i>	Heterocigosis	PATOGÉNICA
32	Si (1,2,3)	NM_001005735.1:c.1345C>T(p.Arg449Cys)	rs587782527	<i>CHEK2</i>	Heterocigosis	VSD
33	Si (1,2,3)	NM_000534.4:c.605G>A(p.Arg202Lys)	rs2066459	<i>PMS1</i>	Heterocigosis	VSD
36	Si (1,3)	NM_007194.4:c.1188del (p.Val397fs)	rs753159426	<i>CHEK2</i>	Heterocigosis	PATOGÉNICA
37	NO	NM_000534.4:c.608dupT	rs773199906	<i>PMS1</i>	Heterocigosis	VSD
40	Si (1,2,3)	NM_000038.6:c.8524T>G(p.Ser2842Ala)	rs587780610	<i>APC</i>	Heterocigosis	VSD
42	Si (1,2,3)	NM_000038.6:c.5603A>G(p.Asp1868Gly)	rs781026376	<i>APC</i>	Heterocigosis	VSD
43	Si (3)	NM_021922.2:c.929dupC	rs749898067	<i>FANCE</i>	Heterocigosis	PROBABLEMENTE PATOGÉNICA
47	Si (2,3)	NM_058216.3:c.725A>T(p.Asp242Val)		<i>RAD51C</i>	Heterocigosis	VSD
	Si (2,3)	NM_004456.4:c.412G>A(p.Val138Ile)	rs766447146	<i>EZH2</i>	Heterocigosis	VSD

1: variantes descritas en la base de datos ClinVar, 2: variantes descritas en la base de datos InterVar, 3: variantes descritas en la base de datos Varsome

Las variantes patogénicas y probablemente patogénica del paciente 10 y 43 no se pueden relacionar de forma evidente con la susceptibilidad al cáncer observado en la familia, se presentan en los genes FANCG, FANCE que son genes relacionados con la Anemia de Fanconi.

Tabla 40. Interpretación y clasificación ACMG de las variantes probablemente patogénicas y patogénicas.

Paciente	Variante	Interpretación	Clasificación ACMG *
9	NM_000122.1:c.1720C>T(p.Arg574Ter) en ERCC3	Patogénica	PVS1, PM2, PP3
10	NM_004629.1:c.1642C>T(p.Arg548Ter) en FANCG	Patogénica	PVS1, PM2, PP5
12	NM_000051.3:c.6733_6734delGA NM_001330368.1:c.641-16397_641-16396delCT en ATM C11orf65	Probablemente patogénica	PVS1, PM1, PM2
30	NM_000179.2:c.1168_1170del GATinsAA en MSH6	Patogénica	PVS1, PM2, PP5
36	NM_007194.4:c.1188del (p.Val397fs) en CHEK2	Patogénica	PVS1, PM1, PM2, PP5
43	NM_021922.2:c.929dupC en FANCE	Probablemente patogénica	PVS1, PM2, PP5

* Visualizar interpretación de la clasificación ACMG en la [introducción](#).

Por otro lado, la variante en el gen ERCC3, con los conocimientos que hay en la actualidad tampoco se puede relacionar de forma evidente con la susceptibilidad al desarrollo de cáncer de mama.

Si analizamos las variantes detectadas en los dos grupos de edad de diagnóstico podemos ver que en el grupo de menos o igual a 50 años se encontraron más del doble (5) de pacientes con variantes patogénicas o probablemente patogénicas que en el grupo de más de 50 años (2) sin

embargo las VSD fueron equilibradas en ambos grupos de pacientes (8 vs 9) ver ilustración 57.

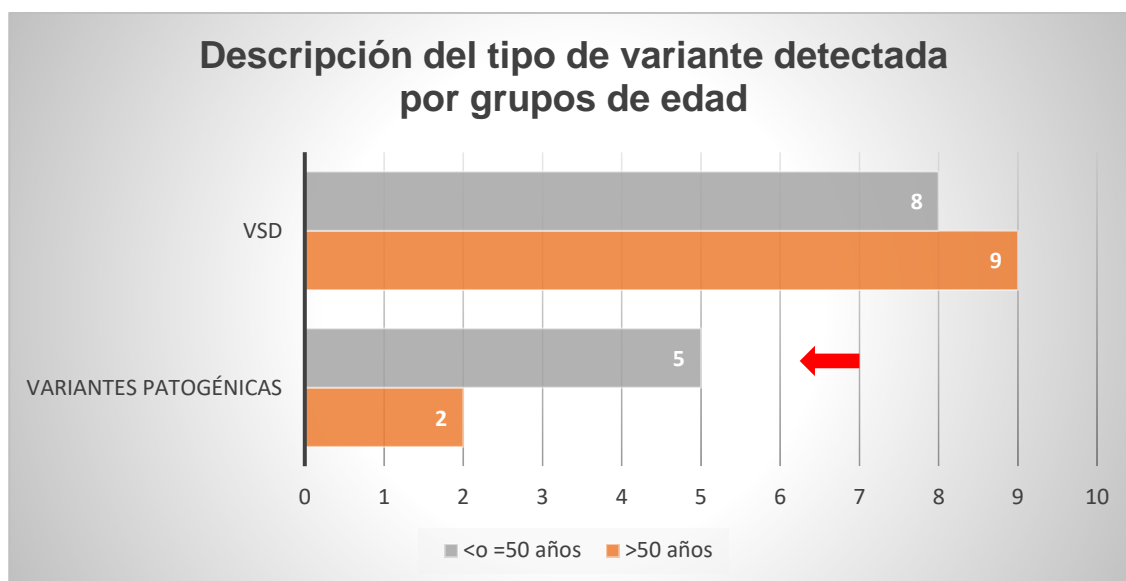


Ilustración 57. Tipo de variantes detectada en los distintos grupos de edad.

A pesar de estas diferencias descritas no se ha encontrado significancia estadística ($p=0,227$ test Fisher para variantes patogénicas en ambos grupos de edad y $p=0,7808$ test X^2 de Pearson para VSD en ambos grupos de edad).

➤ **Descendientes de portadores de variantes patogénicas en *BRCA1***

De las 6 pacientes con variantes patogénicas o probablemente patogénicas solo una de ellas no tiene descendencia, del resto, una de ellas tiene 4 hijos/hijas y el resto tienen 2.

6.5.3. Análisis de la influencia de los polimorfismos en la estimación del riesgo de cáncer de mama.

Para evaluar la influencia de los SNP en la estimación del riesgo de desarrollar cáncer se ha calculado un PRS que contiene el efecto sumatorio de los SNP relacionados con el desarrollo de cáncer de mama y ovario. Esta variable presenta una media de 3,68 (IC 95%: 3,5441 to 3,8218). La variable PRS sigue una distribución normal (Kolmogorov Smirnov-lilliefort $p=0,200$)

La media del número de SNP relacionados con el cáncer de mama y ovario en las 47 pacientes es de 19,0 (14-24).

En la tabla 41 se muestran las variables relacionadas con la influencia de los SNP en la estimación del riesgo de cáncer de mama, así como el riesgo estimado a los 10 años y a lo largo de la vida en un primer grupo en el que solo se tiene en cuenta los antecedentes familiares y un segundo grupo donde se suma el efecto de los antecedentes y el PRS.

Tabla 41. Análisis del riesgo de cáncer por efecto sumatorio de la presencia de polimorfismos

Paciente	Nº de Polimorf. cáncer	Score (Efecto sumatorio polimorf.)	SD	Riesgo Individual 10 años (AF)	Riesgo 10 años (AF + Score)	Riesgo Población 10 años	Riesgo cáncer vida (AF)	Riesgo cáncer vida (AF + Score)	Riesgo Población vida	Detección de variante patogénica o prob. patogénica en <i>BRCA</i> X
1	18	4,56	0,206	1	4,6	0,70	20	63,8	13,30	NO
2	14	2,85	0,126	1,5	4,2	0,90	23,1	52,7	13,20	SI
3	20	3,95	0,15	2,6	10	1,20	26,3	70,4	13,10	NO
4	14	3,07	0,154	2,4	7,3	1,60	19,4	48,4	12,90	NO
5	21	3,47	0,160	4,4	14,7	3,4	13,3	39,4	9,8	NO

6	19	3,35	0,096	4	12,7	1,90	26,8	64,9	12,70	NO
7	17	3,46	0,193	3,8	12,6	2,00	24,2	61,6	12,60	NO
8	23	3,96	0,08	4,9	15,9	2,20	28,4	68,6	12,50	NO
9	19	3,69	0,150	2,3	8,2	2,20	13,9	42,9	12,50	SI
10	18	3,59	0,156	5,5	18,3	2,30	29	70,8	12,30	SI
11	20	4,01	0,105	5,3	19,5	2,40	26,8	71,4	12,20	NO
12	21	4,25	0,20	5,9	22,8	2,50	27,8	74,9	12,00	SI
13	20	3,87	0,093	5,2	18,4	2,50	25,5	67,4	12,00	NO
14	18	3,51	0,162	3,5	11,6	2,50	16,1	46,1	11,80	NO
15	15	3,06	0,219	4,8	14	2,50	22,7	54,5	11,80	NO
16	18	3,20	0,11	2,2	6,9	2,50	10,4	29,7	11,80	NO

17	22	3,56	0,106	3,1	10,7	2,20	18,4	52,4	12,50	NO
18	19	4,05	0,165	4,5	17,1	2,60	14,4	46,7	11,60	NO
19	19	3,28	0,18	5,7	17,6	2,50	27,5	65,2	12,00	NO
20	22	3,79	0,15	7,1	24,5	2,70	29,8	73,9	11,40	NO
21	20	3,49	0,157	6,5	20,9	2,70	27,3	67,1	11,40	NO
22	19	3,82	0,145	10,6	34,8	2,70	33,9	79,5	11,40	NO
23	24	4,30	0,13	9,3	34,1	2,80	31,7	80,5	11,20	NO
24	20	3,32	0,09	5,7	17,8	2,90	21,6	55,5	11,00	NO
25	21	4,02	0,13	8,7	30,9	2,90	26,9	71,8	11,00	NO
26	20	3,68	0,15	3,9	13,7	2,90	15,6	46,5	11,00	NO
27	20	4,03	0,11	9,9	34,4	2,90	33,6	80,8	11,00	NO

28	17	3,20	0,16	5,1	15,3	2,90	18,9	48,8	10,80	NO
29	19	4,23	0,14	7,3	27,6	3,30	23,1	67	10,00	NO
30	19	3,82	0,15	4,3	15,6	3,20	14,5	45,2	10,30	SI
31	21	4,14	0,16	8	29	3,30	24,8	69,3	10,00	NO
32	20	4,34	0,18	5,4	21,6	3,30	17,2	56,2	10,00	NO
33	20	3,12	0,09	6	17	3,40	18	44,8	9,80	NO
34	18	3,42	0,15	4,9	15,8	3,40	13,5	39,1	9,80	NO
35	17	3,89	0,17	9,1	31,2	3,5	25	67,6	9,5	NO
36	19	3,16	0,08	9,1	26,1	3,60	22,2	54,7	9,00	SI
37	19	4,06	0,14	6,1	22,7	3,60	14,8	47,8	8,70	NO
38	18	3,08	0,10	11,7	31,8	3,60	23,9	56,9	8,1	NO

39	20	3,71	0,14	9,5	31,2	3,6	20,6	57,8	7,7	NO
40	16	3,24	0,15	4,1	12,6	3,60	9,1	26,6	7,70	NO
41	17	3,53	0,15	9,5	29,6	3,6	19,8	54,1	7,4	NO
42	20	4,03	0,16	1,7	6,8	3,50	13,7	44,8	6,60	NO
43	22	4,59	0,20	3	13,1	2,30	17	57,5	12,30	SI
44	19	4,679	0,19	1,7	7,8	1,80	13,7	49,8	12,80	NO
45	18	3,13	0,09	14,7	39,2	3,70	21	52,2	4,90	NO
46	19	3,37	0,17	2,4	7,9	1,90	17,2	47,1	12,70	NO
47	17	2,76	0,09	16,7	39,6	0,6	64,8	94,4	13,3	NO

➤ **Influencia de la edad en el score**

Se investiga si la edad influye en el PRS, para ello puesto que en ambos grupos de edad (≤ 50 y > 50 años) hay menos de 30 pacientes se aplica el test estadístico U de Mann-Whitney donde obtenemos $p=0,763$ por lo que no existen diferencias y el PRS es igual en ambos grupos de edad.

➤ **Influencia de la edad en el riesgo a los 10 años y riesgo a los 10 años con score**

Para estudiar si la edad influye en el riesgo a los 10 años y este mismo con el efecto del PRS se estudia la distribución de ambas variables observándose que siguen una distribución normal ($p=0,217$ y $p=0,415$ respectivamente). Sin embargo, los dos grupos de edad contienen menos de 30 casos por lo que se aplica el test estadístico U de Mann-Whitney donde obtenemos significancia estadística ($p=0,018$ y $p=0,016$). Los datos sugieren que el riesgo de cáncer estimado pretest a los 10 años y el mismo con el efecto sumatorio del PRS es diferente en los dos grupos de edad y no se debe al azar.

➤ **Influencia de la edad en el riesgo vida y riesgo vida con score**

Para estudiar si la edad influye en el riesgo vida y este mismo con el efecto del PRS se estudia la distribución de ambas variables observándose que el riesgo vida si sigue una distribución normal ($p=0,5128$) y el mismo con la influencia del PRS no sigue una distribución normal ($p=0,0001$). Sin embargo, para ambos casos y puesto que los dos grupos de edad tienen menos de 30 casos aplicamos el test estadístico U de Mann-Whitney que para ambas variables no siendo estadísticamente significativo ($p=0,132$ y $p=0,250$). Los datos sugieren que el riesgo pretest a lo largo de la vida y el mismo con el efecto del score es similar en ambos grupos de edad.

➤ **Influencia del score en la estimación del riesgo a los 10 años**

Ambas variables cuantitativas siguen una distribución normal ($p=0,217$ para riesgo 10 años y $p=0,415$ para riesgo 10 años con PRS) y si usamos la correlación de Pearson ($r=0,959$ $p<0,0001$) observamos que ambas variables tienen una intensa fuerza de asociación que parece ser lineal ($y = -0,6252 + 0,3379 \times p < 0,001$).

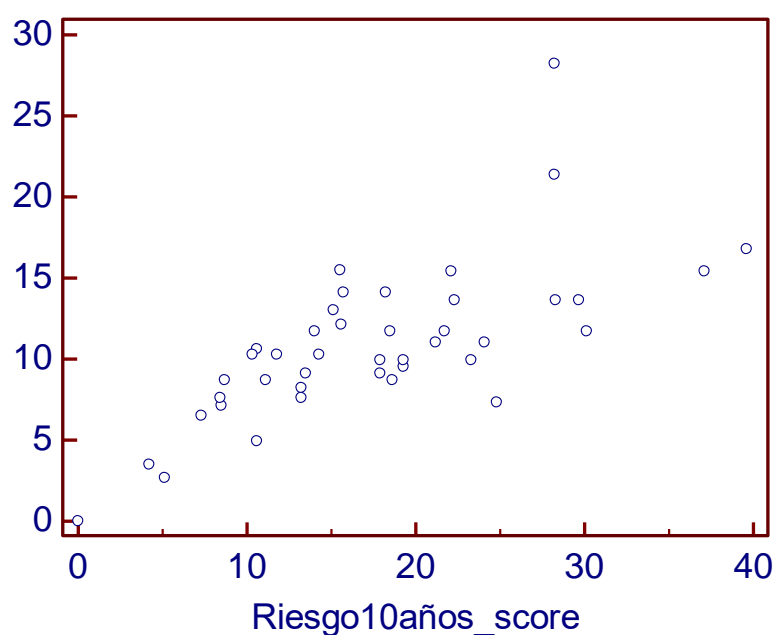


Ilustración 58. Relación de la estimación del riesgo a los 10 años y la misma con la influencia del score.

La diferencia entre ambas variables es siempre positiva lo que sugiere que el efecto del PRS incrementa en todos los casos el riesgo estimado.

➤ **Relación entre riesgo pretest a los 10 años con el score y la detección de variantes patogénicas en *BRCAX***

Para intentar responder a si el riesgo pretest estimado con el valor del PRS correlaciona con haber obtenido finalmente un resultado de variante patogénica o probablemente patogénica aplicamos una regresión logística simple sin obtener significancia estadística ($p=0,280$) por lo que la probabilidad

de encontrar una variante patogénica o probablemente patogénica no depende del riesgo 10 años con PRS.

➤ **Relación entre el score y la detección de variantes patogénicas**

Para determinar la probabilidad de que en el paciente se detectara una variante patogénica o probablemente patogénica en función del valor del PRS calculamos el área de la curva ROC (AUC=0,525, IC95%=0,374 to 0,673, $p=0,84$). Un área bajo la curva de 0,525 indica que un individuo seleccionado al azar del grupo de los portadores de variante tendrá el 52,5% de las veces un valor de PRS cuantitativamente mayor que el PRS de un individuo elegido al azar del grupo de no portadores, lo que indica que el PRS no discrimina si en el paciente se podrá detectar una variante genética patogénica en un gen de moderado o alto riesgo de cáncer.

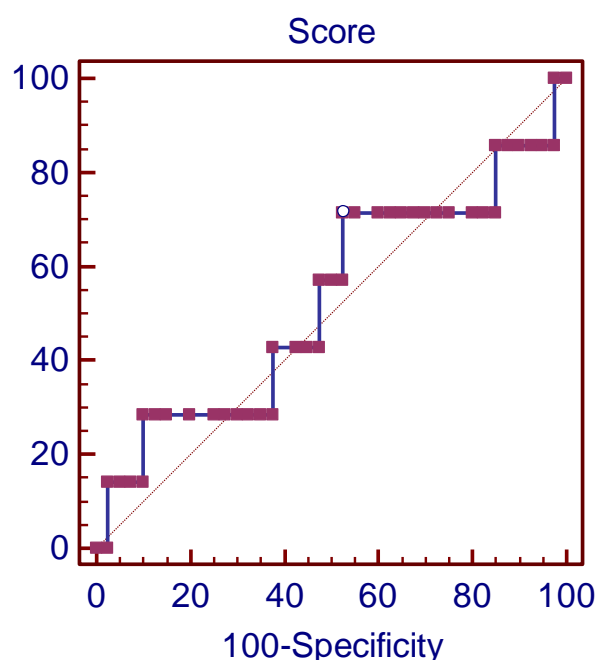


Ilustración 59. Área bajo la curva ROC del score como predictor de variante patogénicas o probablemente patogénicas.

El punto seleccionado como el que expresa mejor relación sensibilidad-especificidad es 3,53 (S=71,43% y E=47,50%). Con dicho punto de corte la

probabilidad de que un caso índice de alto riesgo tenga una variante patogénica si su PRS es $>3,53$ es del 18,5%. El PRS por si solo tiene mala rentabilidad diagnóstica como predictor de la presencia de variantes patogénicas.

6.5.4. Estudio de RAD51D: a propósito de un caso.

Una colaboración con el Hospital Clínico San Carlos nos permitió incluir a una de nuestras pacientes de alto riesgo clínico de cáncer de mama hereditario, cuyos antecedentes personales eran haber padecido un cáncer de ovario, en un estudio de investigación sobre variantes en *RAD51D*, tras resultar negativa para variantes patogénicas o probablemente patogénicas en *BRCA1* y *BRCA2*. En la historia familiar destacan dos casos de cáncer de mama con menos de 50 años. La paciente portaba la variante patogénica deletérea c.694C>T (p.R232X) que implica un codón stop prematuro en secuencia exónicas. Se hace una discusión ética y legal del caso que se puede ver en una publicación realizada y sita en el [Anexo IV](#).

VII. DISCUSIÓN

7.1. Análisis epidemiológico de la población:

La población de estudio y características epidemiológicas

La población de estudio (1059) resulta equilibrada respecto a sanos y enfermos y respecto a casos índices y familiares además de resultar una cantidad nada desdeñable incluso por grupos (502 vs 557 respectivamente).

El porcentaje de varones atendidos en consulta es superior al de otras publicaciones (121) (11%-2,7%), si bien es cierto que de casos índices varones el porcentaje se reduce a un 4% por lo que parece que hay una gran adherencia a comunicar el riesgo familiar y a solicitar por parte de familiares asesoramiento. Respecto a la edad se ha atendido una mayor frecuencia de pacientes comprendidos entre los 30 y 60 años, con un pico entre los 40 y 45 años y una edad promedio de 47,9 años entre casos índices y familiares en conjunto. Resultados que coinciden con la franja de edad más atendida en nuestro hospital (107) según la memoria del año 2017 y a su vez con la franja de edad más frecuente en nuestra Comunidad para ambos sexos (122). Los datos sugieren que la población atendida es representativa de la población de nuestra comunidad autónoma.

En la clasificación del riesgo hemos visto un predominio de pacientes clasificadas como de alto riesgo (72,3%) seguido de un porcentaje similar de moderado y bajo riesgo (13,9% vs 13,8%). La clasificación de alto riesgo es ligeramente superior a la anteriormente publicada en nuestra comunidad autónoma (61,5%) (123) siguiendo los criterios clínicos del Instituto Nacional del Cáncer (NCI) (124). Además, se observan diferencias estadísticamente significativas ($X^2= 6,85$ $p=0,009$, chi cuadrado de tendencia lineal) en la estratificación del riesgo siguiendo los criterios de CAM 2005 vs los de la SEOM 2015. Se detectan más

casos de moderado riesgo en el periodo de uso de criterios de la SEOM del 2015 para la realización de la prueba genética. No se ha encontrado en la literatura científica estudios sobre estas diferencias sin embargo, parece interesante y creemos que una de las explicaciones de dicha diferencia sea porque los criterios de la SEOM para familiares de primer grado limita en ambos casos de CM la edad a menos de 50 años, sin embargo los criterios de la CAM 2005 solo requería que uno de los dos casos tuviera menos de 50 años o el CM sea bilateral. Ello deja según los criterios de la SEOM, más casos como moderado riesgo de cáncer. Sin embargo, en el estudio realizado esos pacientes clasificados según los criterios de la SEOM, respecto a la clasificación en el periodo de criterios CAM 2005 no presentaron variantes patogénicas en *BRCA1/BRCA2*. En el periodo del 2015 al 2017 no se realizó el estudio genético en las familias clasificadas como moderado riesgo según los criterios de la SEOM, por lo que no se puede verificar si estas familias presentarían variante patogénica en *BRCA*. Sin duda el interés radica en si en alguno de estos casos se llega a obtener un resultado informativo y las implicaciones que conlleva.

En ambos periodos y con ambos criterios de estudio, se observa que la población de estudio de alto riesgo se compone mayoritariamente de casos con más de 3 CM en la familia (31% CAM2005 vs 30,9% SEOM 2015) seguido del grupo de pacientes que presentan CM < 35 o 40 años respectivamente (25% CAM2005 vs 25,1% SEOM 2015). El criterio de CM a edad temprana concuerda con los más frecuentes también en otras publicaciones (30,51%), menores frecuencias se observan para 3 o más CM (23,73%). En nuestro caso el criterio más frecuente es 3 casos o más en la familia sin embargo en otras publicaciones el criterio más frecuente son 2 casos (125). Tal vez la calidad de la información familiar tenga

que ver al respecto, información crucial también para la correcta derivación de pacientes a la Unidades de Cáncer Familiar desde Atención Primaria y Atención Especializada. En nuestro caso existe una mejor derivación desde AE con menos casos de bajo riesgo y bastantes más de alto en comparación con las derivaciones desde AP con diferencias estadísticamente significativas ($X^2=37,99$, $p<0,000$). La evolución en el cambio de criterios clínicos hace que la formación al respecto sea crucial. Existen publicaciones que hablan de un 23% de casos en los que no se registra la historia familiar y casi la mitad de casos de alto riesgo no son derivados a las Unidades de Cáncer Familiar (126)(127)(128).

Casos índices

En los casos índices la edad de diagnóstico sigue una distribución normal (K-S $p<0,000$) por lo que los datos serán representativos de diagnósticos a las distintas franjas etarias sin embargo, predomina con mayor frecuencia las pacientes comprendidas entre los 40 y 50 años y un promedio de 46,8 años.

Si lo comparamos con los datos de edad media del registro de tumores de la Comunidad de Madrid (66 años para los pacientes del HULPR (4)) se observa que la población estudiada presenta una edad mucho menor. Se conoce que una edad de diagnóstico temprana es factor de riesgo ampliamente descrito en relación al carácter heredofamiliar (129)(130)(131).

Los datos de factor de riesgo de nuestros casos índices muestran un promedio de edad de menarquia de 12,6 años, la mayor parte de mujeres en este grupo tuvieron descendencia a una edad menor de 30 años y alimentaron con leche materna. Se ha descrito ampliamente en la literatura que una edad de menarquia temprana, la no paridad y una mayor edad para el primer parto son factores que

incrementan el riesgo de cáncer de mama así como que la lactancia materna actúa como factor protector (132).

El 94,6% de los tumores detectados fueron de mama invasivos predominando los unilaterales (82%), ductales (91%) e infiltrantes también dicho fenotipo tumoral se ha descrito en la bibliografía en poblaciones con historia familiar de cáncer de mama y ovario hereditario (131). Otras publicaciones también coinciden con los resultados obtenidos, en una mayor frecuencia del fenotipo hormonal HER2 negativo para casos con carácter genético (129)(133).

El 11,2% de los casos índices desarrolló un segundo cáncer que con mayor frecuencia se trató de cáncer de mama lobulillar (5%) en las mujeres seguido del cáncer de próstata (2%) en varones. Porcentajes similares de desarrollo de segundos cánceres han sido publicados en la literatura (12%-14%) (129).

Resulta de especial interés la comparación con los resultados de la tesis doctoral de la Dra. M. Lobo (134) sobre la atención de pacientes con cáncer de mama y riesgo genético en el Hospital Universitario Gregorio Marañón (HUGM) sito en nuestra misma área de influencia y la misma Comunidad (ver tabla 42). En general nuestros datos son similares, aunque se observan diferencias en la edad de diagnóstico que es menor en las pacientes atendidas en nuestra UCF, lo cual hace pensar que en nuestro estudio se realicen más diagnósticos genéticos. Por otro lado, nuestras pacientes alimentaron en mayor frecuencia con lactancia materna.

Tabla 42. Tabla comparativa de características epidemiológicas de la población atendida en las UCF del HUGM y el HULPR.

<u>Casos índices</u>	UCF del		UCF del
	HUGM		HULPR
	Periodo1	Periodo2	
<u>Edad de diagnóstico media</u>	57,57años	57,84años	46,8 años
<u>Edad media de Menarquia</u>	-		12,6 años
<u>Nuligestas</u>	25,18%		27,2%
<u>Promedio de Hijos nacidos vivos</u>	1,4		1,6
<u>Edad media al primer parto</u>	-		27 años
<u>Lactancia materna</u>	47,94%		86%
<u>Tipo de criterio de alto riesgo</u>			
2 CM<50 años	9,59%	9,98%	27,1%
3CM	2,66%	4,45%	30,5%
CM<35 años	8,52%	7,69%	16,2%
<u>CM de tipo:</u>			
Unilateral	98,6%		82%
Bilateral	1,4%		18,3%
Ductal infiltrante	77,44%		91%
Lobulillar	8,65%		6,09%
<u>Fenotipo hormonal:</u>			
RE+RP+HERB2-	64,65%		66,7%,59,4%,69,6%
RE-RP-HERB2+	6,3%		31,4%,38,5%,26%
<u>Desarrollo de segundo cáncer</u>	1,9%		11,2%

Sobre el tipo de criterio de alto riesgo más frecuentemente cumplido difiere entre ambos hospitales. En nuestro caso el más frecuente son 3 casos de CM y en el del HUGM son 2 CM <50 años.

También se observan diferencias en el porcentaje de pacientes que desarrollan otros tumores tras el cáncer de mama que en nuestra población resulta ser mayor.

Casos Familiares

De todos los casos familiares el 9,2% (51) eran afectos de cáncer y el 90,8% (506) estaban sanos en el momento en el que acudieron a la consulta de genética.

Nuestros resultados de familiares (número ligeramente superior que el de casos índices) que fueron atendidos en la UCF muestra una buena comunicación entre familias. Sin embargo, varios estudios han investigado las dificultades de comunicación en las familias como por ejemplo la importante carga emocional, a menudo muy difícil de afrontar y que con frecuencia las pacientes se sienten comprometidas a ello por la carga ética y moral de revelar el informe del resultado de la prueba a otros miembros de la familia(135). Respecto a ello los familiares varones suelen ser menos informados dentro de las familias en especial la figura paterna. Como solución se han realizado recomendaciones sobre la elaboración de estrategias educativas específicas para los pacientes de manera que mejoren la comunicación familiar (136).

En nuestros resultados y con independencia de los criterios clínicos utilizados (CAM 2005 y SEOM 2015) el 55,8% (311) cumplían criterios de alto riesgo y por tanto se les indicó la realización de la prueba genética. El 18,1% (101) de moderado riesgo y el 26% (145) de bajo riesgo.

La información sobre la realización, en portadores sanos, de cirugías profilácticas muestra que el 33,3% (7) realizó una cirugía profiláctica, un porcentaje algo menor que algún otro publicado y similar al publicado en 2017 por Johns et al. (44%, 34% respectivamente) (137), (138).

La salpingooferectomía bilateral profiláctica y la mastectomía profiláctica bilateral se han asociado con una disminución del riesgo de cáncer de mama en portadores de mutaciones *BRCA1*, *BRCA2* (RR, 0.552; IC del 95%, 0.448-0.682; RR, 0.114; IC del 95%, 0,041-0,317, respectivamente)(139). Por otro lado, se han reportado ciertas implicaciones psicosociales al respecto como mayor carga emocional de las parejas de pacientes que realizan mastectomía profiláctica y de familiares, así como preocupaciones respecto a los niños(137).

Resultados del análisis de *BRCA1/BRCA2*

Respecto a nuestros resultados del análisis de *BRCA1* y *BRCA2* en pacientes y familiares de alto riesgo podemos observar (ver ilustración 60) que del total que cumplían criterios se realiza finalmente el estudio en un 90,6% detectándose variantes en el 29,9% y variantes patogénicas en un 18%. Lo cual deja un alto porcentaje, 70,1%, de pacientes de alto riesgo sin detectar VGP o VGPP en *BRCA1* y *BRCA2*.

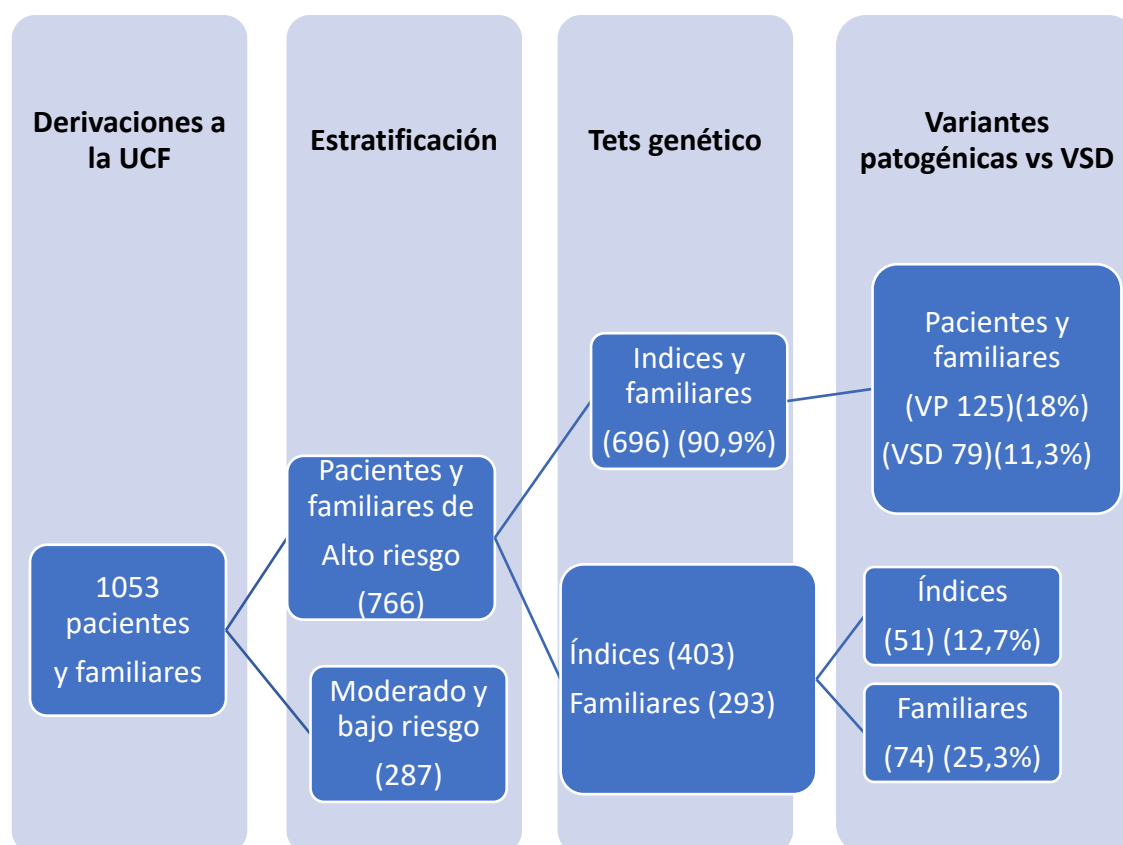


Ilustración 60. Algoritmo de eficiencia diagnóstica de la UCF para BRA1/BRCA2.

En comparación con otras publicaciones de población española la incidencia de variantes detectadas en nuestro estudio es ligeramente menor a otros datos de la región de Castilla y León (140) y de la Comunidad de Madrid (134) respectivamente (32,7% vs 37,5%).

Análisis de variantes patogénicas (VP)

Si analizamos las variantes patogénicas nuestro porcentaje es superior (12,7% casos índices y 18% casos índices y familiares) al publicado en datos del país vasco (125) y Castilla y León (140) respectivamente (6,8%, 7,7%) y más cercano a los resultados publicados de casos índices en población valenciana (17,6%) (141) y otros datos de la Comunidad de Madrid (11,4%) (142). Estas diferencias entre comunidades adelantan una amplia variación del espectro mutacional en *BRCA* anteriormente publicada (ver tabla 43) (141) y que nosotros actualizamos con los datos de la Comunidad de Madrid.

Tabla 43. Incidencia de variantes patogénicas en España desglosado por comunidades autónomas. Adaptado de Pajares et al..

Comunidad y año de publicación	Nº de casos índices	Positivos para BRCA	Positivos para BRCA1	Positivos para BRCA2	Positivos en BRCAX
<i>Galicia (2002)</i>	30	8	8	0	1
<i>Asturias (2013)</i>	256	59	39	20	8
<i>País Vasco (2007)</i>	236	16	6	10	2
<i>Aragón (2008)</i>	60	20	9	11	0
<i>Barcelona (2007)</i>	200	59	30	29	0
<u>Madrid</u>					
HUGM (2018)	220	25	13	12	2
HULPR (2017)	403	51	24	27	6
<i>Valencia (2013)</i>	1763	310	155	155	8
<i>Andalucía (2016)</i>	562	120	50	70	11
<i>Castilla León (2006)</i>	309	24	9	15	0

Estos datos de la Comunidad de Madrid se presentan como resultados de la tesis de la Dra. Lobo (134) en cuyo estudio se detectan un total de 25 variantes patogénicas entre ambos periodos evaluados lo que supone un 11,36% porcentaje ligeramente inferior al nuestro y al igual que nosotros con similar número de variantes entre ambos genes. Comparando las variantes patogénicas

detectadas entre ambos centros coincidimos en las que se especifican a continuación (ver tabla 44).

Tabla 44. Variantes patogénicas coincidentes en el análisis comparativo del HUGM y HULPR

GEN	RS	HGVS coding	HGVS protein
<i>BRCA1</i>	rs28897696	c.5123G>T	A1708E (p.Ala1708Glu)
<i>BRCA2</i>	rs80359212	c.9382C>T	(p.Arg31128X)

El 32 % de los familiares de alto riesgo (99) presentaron una variante genética patogénica tras el estudio de los genes *BRCA1/BRCA2*. Nuestro resultado es algo mayor al reportado en otras publicaciones (23%) (143)

Del total de familiares portadores de variante eran sanos (en el momento de ser atendidos en la consulta) el 79,7% (79). El 93,6% (74) portaban una variante patogénica o probablemente patogénica con similar distribución entre *BRCA1* y *BRCA2* (35 vs 39)

Respecto al balance de variantes patogénicas detectadas en *BRCA1* respecto a *BRCA2*, menos en Asturias y Galicia, en el resto de Comunidades Autónomas o es similar (como en nuestro estudio) o menor para *BRCA1*. Esto se ha justificado en la literatura por las diferencias genéticas de las diferentes poblaciones donde la presencia de población judía Askenazi incrementaría el ratio en favor de variantes en *BRCA1*(141).

Si bien cabe destacar que la detección en familiares a riesgo en porcentaje es el doble de frecuente que en casos índices (25,3% vs 12,7%) por lo que en el resultado de frecuencia de variantes patogénicas detectadas influye notablemente la cantidad de familiares de familias de alto riesgo estudiados y por supuesto de familiares de portadores. De nuevo este hecho recalca la importancia de la comunicación intra familiar de los resultados genéticos y por

parte de los profesionales de genética la importancia de transmitir este hecho así como de realizar estrategias educativas a los pacientes al respecto en el contexto de un AG de tipo compartido, que respete el derecho de autonomía del paciente así como la normativa legal en lo referente a la protección de datos, pero en el que se sepa transmitir con total claridad las implicaciones de comunicar los resultados.

Análisis de VSD y polimorfismos

En su momento de estudio, en el 68,8% de los casos el resultado de la prueba genética fue no informativo al obtener una VSD. Un porcentaje menor que el nuestro 39,9% de VSD fueron detectadas en el HUGM (ver tabla 45).

Tabla 45. Comparación entre centros de la comunidad de Madrid de los resultados de VSD y polimorfismos obtenidos de la realización del estudio genético.

	HUGM	HULPR
VSD BRCA	43	79
VSD BRCA1	19	32
VSD BRCA2	24	47
Polimorfismos BRCA	2	12

Posteriormente una actualización de la reclasificación de VSD permitió reclasificar el 84% de las VSD detectadas como benignas o probablemente benignas. Estos resultados concuerdan con los publicados en la bibliografía donde además se ha publicado que un cuarto de las VSD se suelen reclasificar a patogénicas o probablemente patogénicas (144). En nuestros resultados ya adelantábamos que una VSD en la actualidad se clasifica como patogénica (ver tabla 46) y otra VSD (En BRCA2 c.6928 A>C; p.Thr2310Pro) parece que pueda ser reclasificada como patogénica o probablemente patogénica más adelante,

ya que hay poca información sobre ella actualmente pero los predictores in silico parecen apuntar hacia su posible patogenicidad. Sería de interés realizar el estudio de segregación, el cual ayuda a esclarecer la causa-efecto. A menudo las BBDD presentan discordancia en la interpretación de las variantes. Esta discordancia es motivo de discusión ético legal.

Tabla 46. VSD reclasificadas o susceptibles de reclasificarse en variantes patogénicas o probablemente patogénicas.

GEN	RECLASIFICACIÓN	HGVS CODING	HGVS PROTEIN
*BRCA2	Patogénica	c.8590_8592delGCC	A2864del (p.Ala2864del)

La asociación entre la detección de variante y el número de casos afectados en la familia mostró significancia estadística ($X^2=8,003$ $p<0,018$) mostrando una mayor frecuencia de detección de variantes en los casos de 2 familiares afectados. También la evidencia científica apoya que a mayor número de casos afectados en la familia, existe más probabilidad de cáncer de mama de carácter hereditario (145).

Decisiones clínicas en portadores de VSD en *BRCA1* o *BRCA2*

La probabilidad de detectar VSD es significativamente mayor que la de detectar variantes patogénicas(146) y aún más con las nuevas técnicas de NGS. Para estos pacientes el resultado es no informativo puesto que se desconoce en el momento el riesgo de enfermedad asociado a presentar dicha variante. Este concepto de resultado no informativo a menudo es bastante confuso para el paciente, cuya mente necesita explicar una causalidad a la susceptibilidad personal o familiar, de manera que a pesar de ello en la literatura se ha descrito una alta tasa de pacientes (39%) portadores de VSD y no afectados de cáncer

aunque si con historia familiar, que eligen realizarse cirugía profiláctica en clínicas de carácter privado y que tras reclasificarse dichas VSD el 95% de ellas se reclasificaron a benignas y un 5% patogénicas o probablemente patogénicas (37). Este grupo tenía un riesgo de desarrollar cáncer de mama a lo largo de la vida calculado con IBIS del 27%. En pacientes diagnosticados de cáncer, el conocimiento de portar una VSD antes y después del tratamiento quirúrgico no pareció afectar a la tasa de cirugía profiláctica contralateral.

En este estudio no parece influir solamente el conocimiento de la VSD en la toma de decisión de cirugía profiláctica sino que está basada en otros factores como la historia familiar. Pese a ello, con estos datos se pone de manifiesto la importancia ética, ante acciones clínicas irreversibles, de un adecuado asesoramiento respecto a las VSD y del papel fundamental del asesor genético, así como del respaldo legal del CI.

7.2. Panel de secuenciación masiva:

Resultados del estudio de variantes monogénicas

Otros estudios con paneles multigénicos en población con riesgo alto de cáncer de mama y ovario hereditario han publicado la detección de variantes patogénicas en otros genes de susceptibilidad de desarrollo de cáncer como *PALB2*, *ATM*, *MSH2*, and *PMS2* (147). Las guías de la NCCN recomiendan un estudio dirigido cuando la historia personal o familiar es sugestiva de un único síndrome de cáncer hereditario sin embargo resulta más coste efectivo y eficiente el abordaje con paneles multigénicos cuando más de un gen puede producir el síndrome y en especial cuando nos referimos al grupo poblacional con resultados indeterminados o no informativos. Los tests comercializados difieren significativamente en el número de genes incluidos, así como la

clasificación de variantes y otros factores por lo que la elección del laboratorio específico y el panel es relevante para el estudio genético.

El estudio de otros genes de susceptibilidad genética al cáncer de mama hereditario podría llegar a incrementar el número de casos con diagnóstico genético en al menos un 25% más aparte del 25% de los casos que se imputan a *BRCA1* y *BRCA2*(148).

En nuestro experimento hemos obtenido una detección de VP o variantes probablemente patogénicas (VPP) en *BRCA1* del 12,8% y del 34% para VSD. La incidencia de detección de variantes (VP y VSD) en genes *BRCA1* varía en la literatura y depende de varios factores como la estrategia de secuenciación (genoma, exoma, paneles), los criterios de selección de la población de estudio (si era de alto riesgo y ya testada negativa para *BRCA1* y *BRCA2*) etc. Prevalencias similares a la nuestra (11%) se han dado en publicaciones de estudios realizados en Estados Unidos (149) y en Cataluña (13%) (150).

Variantes patogénicas o probablemente patogénicas detectadas y su implicación en la susceptibilidad al cáncer de mama familiar

Las variantes patogénicas y probablemente patogénicas del paciente 10 y 43 detectadas en heterocigosis, no se pueden relacionar de forma evidente con la susceptibilidad al cáncer observado en la familia, se presentan en los genes **FANCG**, **FANCE** que son genes relacionados con la Anemia de Fanconi.

La relación de la variante c.929dupC en el gen **FANCE** se ha detectado en una paciente de alto riesgo con cáncer de mama en la publicación de Zemankova et al. del año 2016 (148) sobre caracterización de variantes en genes *BRCA1* y su implicación con el cáncer de mama hereditario. Esta VP parece haberse descrito

en asociación con cáncer de esófago. Sin embargo, no hay evidencia científica al respecto sobre la asociación de esta variante con el cáncer de mama.

Nuestros resultados y la evidencia científica anteriormente señalada, sugiere la importancia de las variantes patogénicas en la familia de los genes de la Anemia de Fanconi como componentes genéticos candidatos para el estudio de la susceptibilidad al cáncer de mama.

La VP en **ERCC3** es una variante que trunca la proteína y parece relacionarse con riesgo de desarrollar cáncer, pero no hay suficiente evidencia de que se asocie al fenotipo de cáncer de mama. Claramente este gen está involucrado en la síntesis de una proteína que participa en un paso temprano de la reparación del DNA y cualquier variante patogénica en dicho gen se relacionaría con cáncer, aunque sin poder asumir hoy en día que el fenotipo sea de mama. Sin embargo, otras mutaciones muy similares se han publicado asociadas a pacientes con cáncer de mama (p.Arg109Ter en ERCC3) (151). El estudio de segregación familiar podría contribuir a determinar la implicación de estas variantes en el desarrollo del cáncer de mama en las familias.

Para VP en **MSH6** y su asociación con cáncer de mama y ovario la relación es más controvertida con Odds ratios que varían y pierden significación estadística en la literatura científica. Las mutaciones en este gen se asocian al desarrollo de síndrome de Lynch y por lo tanto se asocia con un aumento de riesgo de cáncer de ovario entre otros (152). Por ello, al caso índice y a los familiares portadores de la VP, se les plantearon las recomendaciones de seguimiento del síndrome de Lynch además de las de alto riesgo de cáncer de mama.

De mayor claridad son las asociaciones de variantes patogénicas en **ATM y CHEK2** al cáncer de mama con un RR moderado de aproximadamente 3 en

ambos casos (22). Estos genes se ven involucrados por ser responsables de codificar para proteínas involucradas en el proceso de desarrollo del cáncer de mama o bien por su papel en la reparación del DNA o por su papel de interacción con *BRCA1* y *BRCA2*.

Se han descrito porcentajes de frecuencia de VP en *ATM*, *CHEK2* y *MSH6* en pacientes con cáncer de mama y ovario del (0,97%-2%), (0,5%-1,28%) y 0,24% respectivamente (22)(153).

Es importante considerar en las familias con una gran historia familiar de cáncer de mama y VP en *ATM* o *CHEK2* que tal vez estas variantes sean responsables de solo una parte del riesgo familiar.

Decisiones clínicas en portadores de variantes patogénicas en genes

BRCA

En nuestra población de estudio las principales recomendaciones que podremos discutir con los nuevos diagnósticos genéticos son a las propias pacientes respecto al cribado de otro síndrome hereditario relacionado con la variante patogénica detectada o bien respecto a medidas de reducción del riesgo de cáncer contralateral o diferencias en el seguimiento y por otro lado a los familiares sanos a riesgo respecto a poderles ofrecer un estudio dirigido y un cribado y medidas de reducción del riesgo.

Recomendaciones de cribado y medidas de reducción del riesgo

Ya hemos hablado anteriormente del solapamiento entre síndromes hereditarios, el cumplimiento de criterios clínicos de alto riesgo para más de un síndrome y de la coexistencia de un mismo gen en el desarrollo de distintos tipos de cánceres hereditarios. Por ello es importante siempre evaluar los resultados en el contexto de la historia familiar de cada paciente de manera que se tenga en cuenta la

posibilidad de relación con un fenotipo de cáncer que no es el que inicialmente originó el estudio.

Existe muy poca evidencia científica respecto a recomendaciones sobre pacientes portadores de VP en genes de moderada penetrancia. Las guías de la NCCN si realizan algunas recomendaciones para dichas variantes en *ATM*, *CHEK2* o *MSH6* (ver tabla 47).

Tabla 47. Recomendaciones de la NCCN de seguimiento en portadores de VP en *ATM*, *CHEK2* y *MSH6* .(40)

TIPO DE TUMOR	ATM	CHEK2	MSH6
CM	Mamografía anual (tridimensional) + RM>40 años (historia familiar) <u>Mastectomía profiláctica según historia familiar</u>	Mamografía anual (tridimensional) + RM>40 años (historia familiar) <u>Mastectomía profiláctica según historia familiar</u>	NSEC*
CO	NSEC*	NSEC*	NSEC*
CCR	NSEC*	<u>Portadores sanos con familiar de 1 grado:</u> Colonoscopia cada 5 años > 40 años o 10 años antes de la edad	Síndrome de Lynch Colonoscopia anual o bianual > 30 años o 10 años antes del diagnóstico más

		de diagnóstico en el familiar de primer grado. <u>Portadores sanos sin familiar de primer grado:</u> colonoscopia cada 5 años > 40 años	temprano de CCR en algún familiar.
<i>OTROS CÁNCERES</i>	NSEC* páncreas o próstata	-	-

*NSEC: no se dispone de suficiente evidencia científica en la actualidad para realizar recomendaciones

Las recomendaciones para portadores de VP en **MSH6** son basadas en la historia familiar pues no hay suficiente evidencia sobre la implicación en el cáncer de mama. Sin embargo, si se conoce con suficiente evidencia su implicación en el síndrome de Lynch. Ya conocemos el solapamiento entre síndromes de cáncer hereditario por lo que en este caso y evaluando la historia familiar podrían estar indicadas medidas de cribado para CCR. La NCCN (154) recomienda para estos casos colonoscopia anual o bianual de comienzo a partir de los 30 años o 10 años antes del diagnóstico más temprano de CCR en algún familiar. En portadores sanos de esta familia el haber detectado esta mutación permite modificar las estrategias de cribado para CCR. En la familia estudiada en la que se detectó una variante patogénica, los familiares sanos portadores de la VGP se recomendó realizar, además del seguimiento de Síndrome de Lynch, seguimiento de detección precoz cáncer de mama de alto riesgo debido a que cumplía criterios de alto riesgo de desarrollar cáncer de mama (3 familiares diagnosticados de cáncer de mama).

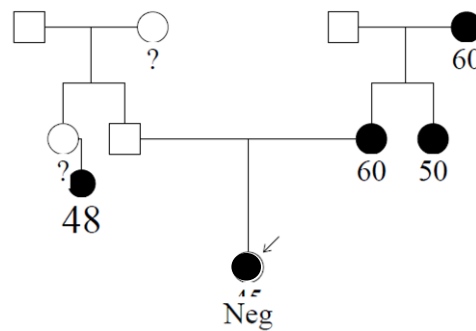
Para las pacientes con VP en **ERCC3, FANCE y FANCG** las recomendaciones deberán individualizarse a cada historia familiar en concreto.

Los genes FANCE y FANCG se asocian al desarrollo de anemia de Fanconi y la herencia es autosómica recesiva por lo que es necesario que el individuo sea portador de dos VGP o VGPP para que se desarrolle la enfermedad. Los 2 casos detectados en la serie estudiada no presentaban antecedentes familiares de anemia de Fanconi y se detectaron en heterocigosis. Si sus parejas fueran portadores de variantes patogénicas en FANCG o FANCE respectivamente podrían transmitir la enfermedad de la Anemia de Fanconi a su descendencia. A los pacientes se les informa del riesgo de transmisión y del riesgo de recurrencia, estudio genético familiar, ect.

Pese a no obtener un resultado informativo respecto a la susceptibilidad incrementada de cáncer de mama y ovario en la familia, se realizarán las recomendaciones individualizadas en cada caso según historia familiar y teniendo en cuenta el alto riesgo de desarrollar cáncer de mama familiar, según los criterios clínicos presentados en la familia.

La paciente 43 (FANCE), que cumple criterios de alto riesgo por diagnóstico de cáncer de mama bilateral triple negativo antes de los 50 años, tiene una historia familiar no informativa por línea paterna y por línea materna hay 1 caso de cáncer de mama diagnosticado a los 60 años y dos de colon. Con esta información se recomendaría a familiares sanos las recomendaciones de alto riesgo de cáncer de mama hereditario (ver tabla 13) y las recomendaciones de cribado de CCR por agregación familiar que incluirían una colonoscopia cada 5 años en familiares de ambos sexos.

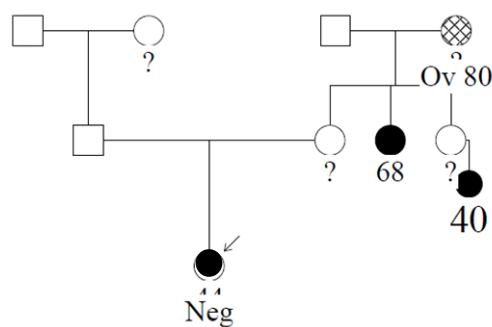
La paciente 10 (FANCG) cumple criterios de alto riesgo clínicos de aumento de riesgo de cáncer de mama en la familia. Con esta información se recomendaría a familiares sanos las recomendaciones de alto riesgo de cáncer de mama hereditario.



(>3 casos CM)

Ilustración 61. Árbol genealógico de la paciente 10.

Para la paciente 9 (ERCC3) a parte de la susceptibilidad de alto riesgo al cáncer de mama, la historia familiar por línea paterna no es informativa y por línea materna presenta antecedentes de cáncer de ovario con edad de diagnóstico tardía.



(3 casos 2 mamas y 1 ovario a cualquier edad)

Ilustración 62. Árbol genealógico de la paciente 9

Pese a que el resultado de la prueba genética resulta no informativo, las recomendaciones de cribado a familiares sanos son las de familia de alto riesgo

clínico de cáncer de mama hereditario y se añadirían las recomendaciones de cáncer de ovario.

Variantes de significado desconocido detectadas y su implicación en la susceptibilidad al cáncer de mama familiar

El significado de la VSD no se socia a un aumento o no del riesgo de cáncer por lo que las recomendaciones de seguimiento se basan en la clasificación clínica de riesgo de la familia.

Sin embargo merece la pena discutir la VSD en el gen CHEK2 de la paciente 2 NM_001005735.1:c.1046G>C (p.Gly349Ala) rs587780192 pues la evidencia científica demuestra conflictos en su interpretación. El residuo de glicina está altamente conservado y hay una pequeña diferencia fisicoquímica entre el residuo de glicina y alanina. Esta variante está presente en las BBDD poblacionales (EXAC 0,01%) y ha sido informada en individuos con historia personal y familiar de cáncer de mama y en un estudio experimental se ha mostrado que este cambio interfiere en la actividad de respuesta de CHEK2 al daño en el DNA en un ensayo en levaduras, además los estudios in silico apoyan un efecto deletéreo (155). Sin embargo, la evidencia científica al respecto es escasa en la actualidad por lo que en la comunidad científica y en las principales bases de datos aún se clasifica como VSD. Si se analiza la historia familiar de esta paciente se observa que no tiene descendencia y que hay dos casos más de cáncer de mama a parte del suyo en la familia en los que sería de gran interés estudiar la segregación familiar de esta variante.

Se insiste en la importancia de reevaluar periódicamente la interpretación de estas variantes.

Influencia de los polimorfismos en la estimación del riesgo

Ignorar el PRS es una simplificación que reduce la precisión de las estimaciones del riesgo ya que el riesgo es la suma de este PRS más el riesgo de la variante causal si es que es el caso de que se porte. Sin embargo, la tendencia hacia la medicina personalizada y de precisión hace que los esfuerzos se centren en mejorar el cálculo del riesgo de cáncer.

Cada vez son más frecuentes los estudios al respecto sin embargo en la actualidad, el cálculo de un PRS relacionado con el cáncer no se ha incorporado a la rutina clínica si no que aún permanece en el ámbito de la investigación.

Con los resultados obtenidos se ha podido calcular un PRS obteniendo un promedio en nuestra población de estudio de 3,68 (IC 95%: 3,5441 to 3,8218). Si comparamos este dato con las publicaciones disponibles observamos que nuestro PRS es superior al publicado en el estudio de validación en población general española (2,00) para un PRS basado en 24 SNP (72) y al publicado en familias finlandesas (2,05) para un PRS basado en 75 variantes para 3 casos o más de cáncer de mama en la familia(156). Varios factores pueden justificar un valor superior en nuestro caso:

- Se conoce que a mayor número de SNP mejor estimación del riesgo y mayor PRS.
- El PRS de nuestra investigación está realizado sobre población de alto riesgo clínico y los anteriores sobre población general con cáncer de mama.
- Por otro lado, otro factor determinante en la variabilidad de resultados entre publicaciones son los valores de OR asociados a los SNP que a menudo difieren según la bibliografía o base de datos consultada y que en el efecto sumatorio aportan gran variabilidad.

- Otro factor importante es la historia familiar de alto riesgo de las pacientes de nuestro estudio. El porcentaje medio de SNP que portan las pacientes respecto a los 30 que conforman el PRS es del 63,5 %. De manera que todas portan más de la mitad de SNP estudiados y a mayor número de SNP mayor PRS.

En la actualidad el PRS se ha incorporado a una única herramienta de predicción del riesgo basada en la historia familiar y que tiene en cuenta también otros factores (IBIS vs 8.0). Pocos son los estudios al respecto, un estudio reciente 2018 estudió la adición de un PRS basado en 67 SNP y otras variables como la densidad mamográfica o las hormonas endógenas incluidos en los actuales modelos de predicción del riesgo de cáncer de mama mejorando sustancialmente la estimación (157).

Los resultados obtenidos sobre la estimación retrospectiva del riesgo con la herramienta IBIS y el efecto sumatorio del PRS muestran en casi la totalidad de los casos un incremento del riesgo individual de las pacientes, obteniendo un valor promedio de riesgo a lo largo de la vida de desarrollar cáncer junto con el efecto del PRS de 56,4% y una SD de 11,9%. Sin duda un valor muy alto para tratarse de pacientes que han sido testadas negativamente para VP en *BRCA1* y *BRCA2*.

Nuestros resultados sugieren que el riesgo a los 10 años y a lo largo de la vida de desarrollar cáncer es diferente en los dos grupos segregados por edad de diagnóstico (≤ 50 y > 51) y que la influencia del PRS iguala los riesgos a lo largo de la vida en ambos grupos de edad. En todos los casos resulta incrementado con una relación lineal para el riesgo a los 10 años. Por otro lado, sugerimos que la capacidad de saber si un punto de corte del PRS, como factor independiente,

es capaz de relacionarse con un diagnóstico genético en *BRCA* no es eficaz. Lo cual nos hace pensar que el efecto de la historia familiar es más importante que el efecto sumatorio de los SNP en la probabilidad de encontrar variantes patogénicas en pacientes de alto riesgo de cáncer de mama familiar. Los resultados por tanto sugieren la importancia del efecto sumatorio de PRS pero sus limitaciones como parámetro aislado.

También ha sido objeto de estudio la influencia del PRS en la estimación del riesgo contralateral en pacientes afectas de cáncer de mama(158).

Se ha discutido la posibilidad de que dicho efecto sumatorio pueda llegar a tener una implicación clínica según las guías del “*National Institute for Health and Care Excellence*” (NICE). Los valores de riesgo de cáncer de mama a lo largo de la vida superior al 50% son candidatos a intervención quirúrgica profiláctica(14).

Por tanto, el uso del PRS en unión a las actuales estimaciones de riesgo disponibles, puede incrementar el número de intervenciones quirúrgicas profilácticas en pacientes de alto riesgo clínico para cáncer de mama hereditario.

7.3. Discusión ético legal

La estrecha línea entre la investigación y el ámbito asistencial, así como el acceso cada vez mayor a plataformas de NGS y estudios genéticos cada vez más extensos reclaman una base legal más allá de la Ley de Investigación Biomédica, una actualización del programa de detección y asesoramiento y una optimización del diagnóstico genético.

Respecto a la formalización legal de la especialidad de genética y su programa formativo.

La falta de identidad y regularización de la especialidad de Genética en España afecta directamente a los pacientes y a la actividad de las unidades clínicas de asesoramiento sobre cáncer familiar. La solicitud de pruebas genéticas

moleculares por parte de profesionales de salud que no están bien formados en genética puede tener una variedad de efectos adversos como la selección de pruebas inapropiadas, la ordenación de paneles cuando la evaluación de genes individuales o menos sería más apropiada, la interpretación de resultados inexactos y la orientación inadecuada del paciente que conlleva un gasto significativo en costes injustificados (159).

Por otro lado, hemos constatado con nuestro estudio experimental la dificultad de la interpretación de resultados de NGS donde una adecuada formación es imprescindible para saber distinguir la presencia de variantes que se tratan de falsos positivos (160).

Ello hace de vital importancia la adherencia a las recomendaciones de guías clínicas y de estudios internacionales sobre la interpretación de resultados y la gestión clínica de la información de estudios genéticos.

En especial en nuestro país, hasta la regularización de la especialidad con entidad propia y del proceso formativo, la acreditación de las competencias por sociedades científicas del área de genética o instituciones europeas tiene un importante papel para los profesionales que se dedican a genética y no disponen de titulación al respecto quedando su actividad asistencial respaldada únicamente en la experiencia profesional.

Uso de secuenciación masiva (NGS) para la realización de pruebas genéticas.

La NGS ha ofrecido nuevos retos y nuevas oportunidades.

Algunos autores han considerado que la NGS puede ser un nuevo método de detección de cáncer de mama en mujeres con historia familiar gracias a la reducción del coste en el uso de esta tecnología (5).

A falta de una base legal para regularizar los análisis genéticos por NGS, se han desarrollado documentos de consenso con determinadas pautas realizados por sociedades científicas para la implementación de esta tecnología en el diagnóstico genético del cáncer hereditario que consolide las fortalezas y oportunidades derivadas del uso de dicha tecnología y minimice, en la medida de lo posible, las debilidades y amenazas (161).

Las principales cuestiones de índole ética y legal en los estudios dirigidos, más frecuentes en la asistencia clínica, tienen que ver principalmente con:

- CI
- Confidencialidad
- Aspectos relacionados con los seguros médicos
- Discriminación según condición genética.

Con el masivo avance de las tecnologías se contemplan estrategias más amplias de análisis genéticos, a menudo más frecuentes en el ámbito de investigación, donde las cuestiones éticas, se ven amplificadas tanto por el volumen como por el tipo de información generado. En consecuencia, los dilemas éticos y legales asociados a la utilización de estas metodologías son muy complejos y los comités de ética de ensayos se enfrentan a la resolución de problemas sin disponer de unas guías consensuadas sobre cómo abordar estas cuestiones.

Bajo nuestra experiencia con esta investigación los principales aspectos de índole ético legal han sido:

- El hacer constar en el CI el deseo del paciente incluido en el estudio sobre la comunicación de resultados relevantes del estudio de investigación entre los que en consulta se explicó que podía tratarse de hallazgos

incidentales o resultados no relacionados con el principal fenotipo de estudio pero cuyo asesoramiento conlleva actuación clínica.

- Otro aspecto fue respecto al almacenamiento de la información genética de las pacientes y respecto a la posibilidad de usarla para investigaciones adicionales.
- Por otro lado el exigir legalmente la acreditación de laboratorios de biología molecular parece la opción más apropiada para reducir los errores de mayor impacto que atentan la seguridad de los pacientes en la realización de la secuenciación masiva. Se realiza esta reflexión tras conocer con nuestra parte experimental lo manual que sigue siendo la preparación de librerías, en concreto la identificación de muestras y pacientes y siendo conocedores del impacto de un error en la seguridad del paciente y sus familiares en este punto. En este contexto, se puede entender fácilmente el riesgo de una confusión en la identificación de las muestras dirigidas a su análisis genético tanto para el paciente que espera el resultado como para el que sin quererlo, obtenga un resultado genético de susceptibilidad al desarrollo de cáncer especialmente si además el resultado es informativo. Los efectos adversos, tratándose de una consulta de cáncer familiar van aún más lejos ya que no sólo afectan a los casos índices sino que además afectan también a los familiares.

Respecto al uso de paneles multigénicos y la estrecha relación entre la asistencia clínica y la investigación

La protección de los derechos fundamentales de las personas es de los aspectos éticos más importantes que se deben tener en cuenta en la regularización de la especialidad, sobre todo con la llegada de las nuevas tecnologías donde aún no

quedan claramente distinguidos muchos de los aspectos de la práctica asistencial y del ámbito de la investigación.

La práctica más extendida en el ámbito asistencial es acotar el análisis al fenotipo de estudio, pese a que por coste efectividad, el abordaje en la realización de la prueba genética sea más extenso, incluso conociendo que a menudo los síndromes de cáncer hereditario se ven entremezclados.

Probablemente en esta gestión de la búsqueda diagnóstica influya el carácter de “susceptibilidad a desarrollo” que envuelve al abordaje del estudio del cáncer y la inexistencia de certeza sobre la relación en todos los casos entre diagnóstico genético-desarrollo del cáncer.

Algunas publicaciones señalan ya que con la bajada de precios de la NGS y teniendo en cuenta la actuación clínica asociada a el diagnóstico genético, el uso de paneles de siete genes para el diagnóstico genético del cáncer de mama y ovario hereditario resulta coste efectivo (162).

Por lo que en el ámbito asistencial se tiende a la selección de genes, que se decide sobre si incluirlos o no en el panel siempre y cuando se conozca que una VP en dicho gen será accionable clínicamente. De esta manera la incertidumbre respecto a la interpretación de resultados patogénicos en genes aún en estudio queda en el ámbito de la investigación hasta que la evidencia científica al respecto sea lo suficientemente fiable. En este punto serán las sociedades científicas, colegios u organizaciones internacionales las que elaboren las recomendaciones de manejo de los pacientes y recalquen el peso o idoneidad del paso del estudio de dicho gen al ámbito asistencial.

Incluir genes de moderada penetrancia en el abordaje asistencial obliga a segregar las VP en dichos genes de manera que se puede llegar a esclarecer el

peso de las variantes en el desarrollo del cáncer en la familia, pero sin poder realizar recomendaciones de seguimiento y tratamiento avaladas por entidades de peso en el estudio del cáncer, sino quedando a criterio del profesional que atiende a dichos pacientes. Los centros que cuentan con UCF que están bien establecidas en los hospitales, se componen de un equipo multidisciplinar y disponen del apoyo de comisiones clínicas o comités multidisciplinarios de valoración también desde un punto de vista ético, son de gran ayuda para dilucidar las estrategias de seguimiento individualizadas a cada caso.

Por otro lado, hemos podido constatar con nuestros resultados el conflicto ético que se genera de no realizar el estudio de otros genes menos frecuentes, pero que a día de hoy ya son considerados de alta penetrancia (*PALB2*) y en algunos otros de moderada (*CHEK2*, *ATM*) o aquellos, como *MSH6*, en los que no está tan clara su implicación para el cáncer de mama pero si respecto a otros síndromes (Síndrome de Lynch), de manera que la detección de VP en estos genes conlleva actuación clínica y modificaciones importantes en las estrategias de cribado, seguimiento o reducción del riesgo en las familias.

Por otro lado, pese a los esfuerzos de querer reducir las dudas en la interpretación de resultados y manejo de los pacientes, no podremos evitar seguir teniendo dudas en el ámbito asistencial que proceden de las VSD que se detectan, y cada vez con más frecuencia por el uso de paneles.

Al respecto es de vital importancia la reevaluación de dichas variantes, así como los estudios de investigación que permiten contribuir al conocimiento de la implicación de dichas variantes en la enfermedad como por ejemplo con estudios de segregación. Dichos estudios de segregación normalmente quedan en el ámbito de investigación por tratarse de VSD, lo que hace entender la importancia

de la investigación respecto a estudios en cáncer hereditario. Otro papel importante al respecto es asegurarnos de un asesoramiento correcto al respecto de VSD.

Comunicación de resultados y discordancias en la interpretación de variantes

En consecuencia, la comunicación al paciente de estos hallazgos en el estudio genómico dependerá de su propia decisión expresada en el CI, según ampara la ley vigente respaldando el derecho a saber y a no saber. Con independencia de dicha decisión, cuando el facultativo identifique la existencia de un hallazgo relevante para la salud del paciente o de sus familiares, podrá:

- Informar al paciente si este ha manifestado su voluntad de saber.
- Informar a algún familiar si el paciente manifestó su voluntad de no saber.

Es importante incluir estos aspectos en el CI y la voluntad del paciente respecto a conocerlos, así como a ser re contactados en un futuro por reclasificaciones de las variantes que impliquen a dichos hallazgos.

El uso de paneles multigénicos permite estimaciones de riesgo más exactas que contribuyen a una medicina más personalizada y de precisión. Sin embargo, a su vez sujeta a imprecisión respecto a la interpretación de resultados.

Hasta la elaboración de recomendaciones de estandarización sobre qué informar, las VP en genes no relacionados con el fenotipo de estudio y las VSD en determinadas ocasiones y con diferencias entre centros no se han venido informando. Las primeras por no tratarse del motivo de estudio en la familia o por no tener consenso respecto a la actuación clínica si se trata de genes de moderada o baja penetrancia y las segundas por considerarse resultados no informativos. Sin embargo, su omisión puede acarrear una pérdida de oportunidad diagnóstica, con las consecuencias éticas y legales que de ello

podrían derivarse. La guía de la ACMG recomienda informar variantes patogénicas y probablemente patogénicas de relevancia que conlleven actuación clínica, pese a ser resultado de hallazgos incidentales, para 56 genes y 24 trastornos incluso si ello supone no respetar los derechos de autonomía y el derecho a no saber del paciente. Todos estos datos deben incorporarse a la información que se le aporta al paciente sobre el estado y el pronóstico de su enfermedad, basándose en el derecho a la información que se recoge en normativa legal, y dejando claro hasta donde llega la capacidad pronóstica o predictiva de los mismos.

Por otro lado, pese a conocer información sobre las VSD que permita pensar que puedan ser en un futuro reclasificadas como patogénicas o probablemente patogénicas, la recomendación es que debemos ser prudentes en la comunicación e interpretación de dichas variantes en los informes que se dan a los pacientes e intentar estandarizar las interpretaciones que, en el caso de no haber suficiente evidencia científica de patogenicidad, se recomienda la clasificación como VSD. El conflicto ético viene dado sobre todo al valorar el gen sobre el que se sitúan y el impacto que tendría la reclasificación sobre la actuación clínica. Pero por otro lado no sería menos importante el impacto que tendría el transmitir en el asesoramiento al paciente cierta causalidad a la VSD pudiendo derivar en la solicitud de una intervención quirúrgica profiláctica.

Ya adelantábamos en la discusión sobre VSD la tendencia a interpretar dichas variantes como patogénicas por los pacientes que acaban tomando decisiones irreversibles. Que estas situaciones clínicas se estén dando y que en España el contexto sea el de una especialidad existente pero no regulada legalmente ni con un programa oficial formativo de especialistas en AG, sin duda es alarmante.

En este vacío de respaldo legal para los profesionales de genética sin duda es de vital importancia el respaldo de los colegios de médicos y de las asociaciones especializadas en genética, así como es muy recomendable la certificación o acreditación de competencias por un organismo o entidad a su vez competente para ello.

Situaciones clínicas desaconsejadas en la actualidad, por falta de conocimiento científico, pero obradas en respeto al derecho de autonomía de los pacientes deben quedar con evidencia escrita de dicha deliberación médico-paciente, así como de eximir cualquier responsabilidad de la decisión. Por otro lado, el asesor genético debe intentar que la decisión del paciente sea libre e informada de toda la actualidad al respecto, de manera que se evite en la medida de lo posible que sea tomada en un ambiente familiar exorable al miedo de una susceptibilidad genética.

7.4. Recomendaciones de actualización del programa de detección y asesoramiento de la Comunidad de Madrid

Por tanto, con lo anteriormente expuesto y resumiendo desde nuestro punto de vista el actual programa de detección debe ser actualizado y algunos de los puntos que recomendamos incluir son:

- Hasta legalizar la especialidad de genética y su proceso formativo exigir a la figura de asesor genético responsable de la coordinación hospitalaria la acreditación de competencias.
- Exigir la acreditación de los laboratorios de análisis genéticos por la norma UNE EN ISO 15189.
- Contemplar para el cáncer de mama y ovario familiar el estudio de otros genes *BRCA*, por ejemplo, con un panel multigénico dirigido donde se

incluyan *ATM*, *CHEK2* y *MSH6* cuyas recomendaciones en caso de detectar VP implican modificaciones relevantes respecto a no haber sido estudiados.

- Contemplar especificar un abordaje, por ejemplo, con un panel multigénico dirigido, para pacientes que cumplan criterios de alto riesgo para más de un síndrome de cáncer hereditario. O bien, el abordaje del estudio de los síndromes genéticos de cáncer en conjunto. (Los estudios de coste-efectividad de ambas estrategias permitirán seleccionar la más adecuada)

Limitaciones y perspectivas futuras

Como principal limitación en nuestro estudio señalamos la imposibilidad de tener un grupo mayor para la parte experimental por falta de financiación. Lo cual nos obligó a descartar hacer un grupo de casos y otro de controles sino decantarnos por rentabilizar la posibilidad de hacer un diagnóstico genético y seleccionar solo casos.

Por otro lado, han sido limitaciones también la imposibilidad de realizar en esta investigación los estudios de segregación pertinentes que nos permitan esclarecer con mayor claridad la causa-efecto en las VP en genes *BRCAX*, que actualmente disponen de poco conocimiento científico respecto a la implicación en el cáncer de mama. Así como, dichos estudios en VSD que ayuden a esclarecer la implicación de dichas variantes en nuestra patología de estudio.

Otros estudios de investigación podrán aportar mayor conocimiento a la comunidad científica.

Nos parece interesante tras observar las discrepancias entre los distintos criterios clínicos de estratificación del riesgo realizar un estudio más extenso al respecto y conocer si en otras UCF encuentran también dicha discrepancia. Así como analizar genéticamente esos casos de moderado riesgo de 2015 a 2017

que si se hubieran clasificado con los criterios de CAM 2005 se les hubiera realizada la prueba y observar si finalmente se llega a un diagnóstico genético que implique una actuación clínica.

Por otro lado, nos parece de gran interés para la comunidad de genetistas la exposición de las recomendaciones realizadas en casos concretos de detección de VP en genes de moderado riesgo que no disponen del apoyo de guías clínicas para intentar estandarizar dichas recomendaciones teniendo en cuenta entre otros aspectos el número de afectos en la familia.

Como limitación señalamos la incapacidad de inferir nuestras conclusiones respecto al efecto sumatorio de los polimorfismos por tratarse de un estudio retrospectivo basado en una estimación histopatológica no patogénica cuando nuestra muestra experimental son afectas. No se pudo incluir un grupo de individuos con riesgo de cáncer poblacional debido a las limitaciones económicas. Sin embargo, este análisis es de vital importancia pues a pesar de no ser exacto ya indica una estimación de riesgo con posible actuación clínica. Se cree que en un futuro a medio plazo las estimaciones del riesgo individual junto con el PRS de SNP y tras no encontrar VP con el uso de paneles multigénicos, permitirán establecer recomendaciones individualizadas y estratificadas por franjas de riesgo a lo largo de la vida de una manera más exacta que sin el apoyo del PRS. Futuros estudios podrán evaluar si contar con dicha información adicional mejora las recomendaciones y si es eficiente.

Esta tesis aporta conocimientos para mejorar la asistencia en los pacientes oncológicos y sus familias y como parte de investigación traslacional se podrá transferir en la práctica clínica.

VIII. CONCLUSIONES

En relación con los objetivos primarios:

Respecto al primer objetivo primario de estudiar la presencia de variantes genéticas en genes *BRCAX* podemos concluir:

- El estudio del panel de cáncer hereditario por NGS nos ha permitido realizar un diagnóstico genético en relación con la susceptibilidad al desarrollo de cáncer de mama en el 6,8% de las pacientes incluidas en el estudio, así como la realización de los estudios de segregación familiares.
- Las VSD detectadas ayudan a incrementar la actual base de datos de variantes detectadas en estos pacientes y por tanto contribuyen a mejorar la clasificación de variantes genéticas.
- Nuestros resultados contribuyen a recalcar la importancia del estudio de los genes de la familia de la anemia de Fanconi como componentes genéticos candidatos para el estudio de la susceptibilidad al cáncer de mama.
- La detección de VP en genes *BRCAX* permiten individualizar y suponen una modificación de las recomendaciones de manejo clínico de pacientes y familiares.

Respecto al segundo objetivo primario sobre determinar los principales problemas éticos y legales destacamos:

- La falta de normalización respecto a la identidad de la especialidad de genética como de la formación de profesionales genetistas tiene un importante impacto en la seguridad de los pacientes y sus familiares y se relaciona con los principios de beneficencia y no maleficencia. La tarea de análisis genético e interpretación es una tarea a menudo sujeta a puntos

cuyo error tiene un alto impacto en la seguridad de las pacientes y sus familiares, así como sujeta a muchas incertidumbres y a la falta de información suficiente.

- Es muy recomendable informar por escrito todas las VSD de manera que no se pierdan oportunidades diagnósticas posteriores. De igual modo recalcar a los pacientes la importancia de que de manera proactiva se contacten para solicitar la última información sobre la reclasificación de su VSD ya que se delega una gran importancia en la reevaluación periódica de estas variantes que a menudo es postergada más de la cuenta.
- Se debe de cumplir el derecho del paciente a no saber en el caso de resultados cuya interpretación es incierta o cuyo resultado no conlleva actuación clínica.
- El CI sigue jugando un papel muy importante desde el punto ético legal con las nuevas tecnologías y requiere ser modificado contemplando el deseo expreso del paciente respecto a ser conocedor de hallazgos incidentales.
- Se necesita regular legalmente, como competencia del asesor genético, la necesidad de informar sobre resultados que conlleven actuación clínica teniendo presentes y respetando los principales principios éticos.

En relación con los objetivos secundarios:

- Nuestra población es homogénea respecto a la de nuestra misma área de influencia destacando por nuestra parte una mayor comunicación a familiares de sexo masculino, una historia familiar más completa, una mayor tasa de lactancia materna y un mayor porcentaje de desarrollo de segundos cánceres.

-
- La estratificación de pacientes según los criterios clínicos de la CAM 2005 y los de la SEOM 2015 es diferente, incrementando en estos últimos el grupo de moderado riesgo, probablemente en relación con unos criterios más exigentes en la franja de edad de nuestra población.
 - Un alto porcentaje de individuos de alto riesgo clínico de cáncer de mama familiar (70,1%) no se detecta VP o VGPP tras analizar los genes *BRCA1* y *BRCA2*.
 - El 18% de individuos de alto riesgo clínico de cáncer de mama familiar se detectan VGP o VGPP con el estudio de *BRCA1* y *BRCA2*.
 - El 12,8% de individuos afectos y de alto riesgo clínico de cáncer de mama familiar confirman un síndrome hereditario de cáncer tras analizar otros 92 genes *BRCAX*. El 6,4% de ellos con clara relación con el fenotipo de estudio (cáncer de mama).
 - El diagnóstico genético realizado por el estudio de genes *BRCAX* permite modificar las recomendaciones de manejo clínico de los pacientes y de sus familiares a riesgo
 - El porcentaje de VSD que se obtiene del estudio con paneles multigénicos por NGS es superior al obtenido para el estudio de *BRCA1* y *BRCA2* (79,3% vs-68,8%).
 - La reclasificación de VSD disminuye en un 84% la incertidumbre de su interpretación clínica al ser reclasificadas a benignas o probablemente benignas.
 - El uso del PRS en unión a las actuales estimaciones de riesgo disponibles puede ayudar a clasificar el individuo el riesgo que en bajo, moderado o alto riesgo de desarrollar cáncer de mama.

IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Segura PP. Cáncer familiar y consejo genético. FMC - Form Médica Contin en Atención Primaria [Internet]. 2013 Jun 1 [cited 2019 Oct 15];20(6):327–33. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1134207213705917>
2. Observatory G cancer. CANCER TODAY. GLOBOCAN. IARC. [Internet]. 2018 [cited 2019 Oct 16]. Available from: [https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=2&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group\[\]=0&ages_group\[\]=17&nb_items=7&group](https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-pie?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=total&sex=2&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group[]=0&ages_group[]=17&nb_items=7&group)
3. Instituto Nacional de Estadística (INE) [Internet]. 2017 [cited 2019 Oct 16]. Available from: <https://public.tableau.com/views/CAUSASDEMUERTE1/Dashboard1?:showVizHome=no&:embed=true>
4. Rey H, Carlos J. REGISTRO DE TUMORES DE LA COMUNIDAD DE MADRID TOTAL HOSPITALES INFORME DE LA INCIDENCIA OBSERVADA EN EL TOTAL DEL AÑO 2012. 2012;1–122. Available from: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadertype=Content-Disposition&blobheadervalue1=filename%3DRTMAD+-+Informe+de++2012+.pdf&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1352908274580&ssbinary=true>
5. Sun Y-S, Zhao Z, Yang Z-N, Xu F, Lu H-J, Zhu Z-Y, et al. Risk Factors and Preventions of Breast Cancer. Int J Biol Sci. 2017;13(11):1387–97.

6. Andrieu N, Goldgar DE, Easton DF, Rookus M, Brohet R, Antoniou AC, et al. Pregnancies, breast-feeding, and breast cancer risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study (IBCCS). *J Natl Cancer Inst.* 2006 Apr;98(8):535–44.
7. Chang-Claude J, Andrieu N, Rookus M, Brohet R, Antoniou AC, Peock S, et al. Age at menarche and menopause and breast cancer risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007 Apr;16(4):740–6.
8. Brohet RM, Goldgar DE, Easton DF, Antoniou AC, Andrieu N, Chang-Claude J, et al. Oral contraceptives and breast cancer risk in the international BRCA1/2 carrier cohort study: a report from EMBRACE, GENEPSO, GEO-HEBON, and the IBCCS Collaborating Group. *J Clin Oncol.* 2007 Sep;25(25):3831–6.
9. Brewer HR, Jones ME, Schoemaker MJ, Ashworth A, Swerdlow AJ. Family history and risk of breast cancer: an analysis accounting for family structure. *Breast Cancer Res Treat.* 2017 Aug;165(1):193–200.
10. Marquez-Rodas I, Pollan M, Escudero MJ, Ruiz A, Martin M, Santaballa A, et al. Frequency of breast cancer with hereditary risk features in Spain: Analysis from GEICAM “El Alamo III” retrospective study. *PLoS One.* 2017;12(10):e0184181.
11. Olopade OI, Grushko TA, Nanda R, Huo D. Advances in breast cancer: pathways to personalized medicine. *Clin Cancer Res.* 2008 Dec;14(24):7988–99.
12. Rojas K, Stuckey A. Breast Cancer Epidemiology and Risk Factors. *Clin Obstet Gynecol.* 2016 Dec;59(4):651–72.

13. Green VL. Breast cancer risk assessment, prevention, and the future. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2013 Sep;40(3):525–49.
14. Evans DG, Graham J, O'Connell S, Arnold S, Fitzsimmons D. Familial breast cancer: Summary of updated NICE guidance. Vol. 346, *BMJ* (Online). 2013.
15. Ghousaini M, Pharoah PDP, Easton DF. Inherited genetic susceptibility to breast cancer: the beginning of the end or the end of the beginning? *Am J Pathol.* 2013 Oct;183(4):1038–51.
16. Couch FJ, Nathanson KL, Offit K. Two decades after BRCA: setting paradigms in personalized cancer care and prevention. *Science.* 2014 Mar;343(6178):1466–70.
17. Park JS, Lee S-T, Nam EJ, Han JW, Lee J-Y, Kim J, et al. Variants of cancer susceptibility genes in Korean BRCA1/2 mutation-negative patients with high risk for hereditary breast cancer. *BMC Cancer.* 2018 Jan;18(1):83.
18. Pascual Gómez NF, Bandrés Moya F, Alonso Cerezo C. Discusión ética y legal del asesoramiento genético en paciente portadora de una variación patológica en RAD51D. *Rev Esp Med Leg.* 2017;43(4):176–9.
19. Rashid MU, Naeemi H, Muhammad N, Loya A, Yusuf MA, Lubinski J, et al. A novel deleterious c.2656G>T MSH2 germline mutation in a Pakistani family with a phenotypic overlap of hereditary breast and ovarian cancer and Lynch syndrome. Vol. 14, *Hereditary cancer in clinical practice.* Poland; 2016. p. 14.
20. LaDuca H, Polley EC, Yussuf A, Hoang L, Gutierrez S, Hart SN, et al. A clinical guide to hereditary cancer panel testing: evaluation of gene-specific

- cancer associations and sensitivity of genetic testing criteria in a cohort of 165,000 high-risk patients. *Genet Med*. 2020;22(2):407–15.
21. Saam J, Arnell C, Theisen A, Moyes K, Marino I, Roundy KM, et al. Patients Tested at a Laboratory for Hereditary Cancer Syndromes Show an Overlap for Multiple Syndromes in Their Personal and Familial Cancer Histories. *Oncology*. 2015;89(5):288–93.
 22. Ruth V et al. (SEOM). *Cáncer Hereditario* [Internet]. 3ª edición. S.L. GP, editor. Seom. Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM); 2019. Available from: <http://contenidos.institutoroche.es/pdf/libro1.pdf>
 23. Langlois A. The UNESCO Bioethics Programme: a review. *New Bioeth a Multidiscip J Biotechnol body*. 2014;20(1):3–11.
 24. Portal de la UNESCO. Resolución 32 C/15. [Internet]. UNESCO.ORG. 2003 [cited 2019 Nov 4]. p. 43 (187). Available from: https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000133171_spa
 25. Portal de la UNESCO. Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos [Internet]. UNESCO.ORG. 1999 [cited 2019 Nov 4]. p. 6p. Available from: https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000117335_spa?posInSet=1&queryId=96a2219d-b709-4665-82e9-a8aa6fd8a12c
 26. Nielsen SM, Eccles DM, Romero IL, Al-Mulla F, Balmana J, Biancolella M, et al. Genetic Testing and Clinical Management Practices for Variants in Non-BRCA1/2 Breast (and Breast/Ovarian) Cancer Susceptibility Genes: An International Survey by the Evidence-Based Network for the Interpretation of Germline Mutant Alleles (ENIGMA) Clinica. *JCO Precis Oncol*. 2018;2.

27. Tung N, Domchek SM, Stadler Z, Nathanson KL, Couch F, Garber JE, et al. Counselling framework for moderate-penetrance cancer-susceptibility mutations. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016 Sep;13(9):581–8.
28. González-Santiago S, Ramón y Cajal T, Aguirre E, Alés-Martínez JE, Andrés R, Balmaña J, et al. SEOM clinical guidelines in hereditary breast and ovarian cancer (2019). *Clin Transl Oncol* [Internet]. 2020;22(2):193–200. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12094-019-02262-0>
29. González Navarro A. El programa integral de detección y asesoramiento de cáncer familiar en la Comunidad de Madrid. *Psicooncología Investig y clínica biopsicosocial en Oncol*. 2005;2(2):395–402.
30. Lastra-Aras E, Robles-Diaz L, Guillen-Ponce C, Alba E, Cruz J-J. SEOM recommendations on the structure and operation of hereditary cancer genetic counseling units (HCGCUs). *Clin Transl Oncol*. 2013 Jan;15(1):20–5.
31. Rouesse J, Sancho-Garnier H. [Organized breast cancer screening]. *Bull Acad Natl Med*. 2014 Feb;198(2):369–86.
32. SEOM. Distribución de las Unidades de cáncer familiar. SEOM. [Internet]. SEOM. [cited 2019 Nov 8]. Available from: <https://seom.org/informacion-sobre-el-cancer/consejo-genetico/unidades-consejo-genetico>
33. Nilsson MP, Winter C, Kristoffersson U, Rehn M, Larsson C, Saal LH, et al. Efficacy versus effectiveness of clinical genetic testing criteria for BRCA1 and BRCA2 hereditary mutations in incident breast cancer. *Fam Cancer*. 2017 Apr;16(2):187–93.
34. Llorc G, Chirivella I, Morales R, Serrano R, Sanchez AB, Teule A, et al. SEOM clinical guidelines in Hereditary Breast and ovarian cancer. *Clin*

- Transl Oncol. 2015 Dec;17(12):956–61.
35. Terry MB, Liao Y, Whittemore AS, Leoce N, Buchsbaum R, Zeinomar N, et al. 10-year performance of four models of breast cancer risk: a validation study. *Lancet Oncol*. 2019 Apr;20(4):504–17.
36. Sánchez de Abajo AM, De la Hoya Mantecón M. Manejo de las variantes genéticas sin clasificar en una consulta de consejo genético. *Ed Cont Lab Clín* [Internet]. 2016;27:77–93. Available from: <http://www.seqc.es/download/tema/9/3880/1492868464/917430/cms/tema-8-manejo-de-las-variante-geneticas-sin-clasificar-en-una-consulta-de-consejo-genetico.pdf/>
37. Welsh JL, Hoskin TL, Day CN, Thomas AS, Cogswell JA, Couch FJ, et al. Clinical Decision-Making in Patients with Variant of Uncertain Significance in BRCA1 or BRCA2 Genes. *Ann Surg Oncol*. 2017;24(10):3067–72.
38. Davy G, Rousselin A, Goardon N, Castera L, Harter V, Legros A, et al. Detecting splicing patterns in genes involved in hereditary breast and ovarian cancer. *Eur J Hum Genet*. 2017 Oct;25(10):1147–54.
39. Soto JL, Blanco I, Díez O, Planells JG, Lorda I, Matthijs G, et al. Documento de consenso sobre la implementación de la secuenciación masiva de nueva generación en el diagnóstico genético de la predisposición hereditaria al cáncer. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2018;151(2):80.e1–80.e10. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775318300356>
40. NCCN. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian. Version 3.2019. 2019. p. 1–191.

41. Tavera-Tapia A, de la Hoya M, Calvete O, Martin-Gimeno P, Fernandez V, Macias JA, et al. RECQL5: Another DNA helicase potentially involved in hereditary breast cancer susceptibility. *Hum Mutat.* 2019 May;40(5):566–77.
42. Howlett NG, Taniguchi T, Olson S, Cox B, Waisfisz Q, De Die-Smulders C, et al. Biallelic inactivation of BRCA2 in Fanconi anemia. *Science* (80-). 2002;
43. Hilbers FS, Wijnen JT, Hoogerbrugge N, Oosterwijk JC, Collee MJ, Peterlongo P, et al. Rare variants in XRCC2 as breast cancer susceptibility alleles. *J Med Genet.* 2012 Oct;49(10):618–20.
44. Gutierrez-Enriquez S, Bonache S, de Garibay GR, Osorio A, Santamarina M, Ramon y Cajal T, et al. About 1% of the breast and ovarian Spanish families testing negative for BRCA1 and BRCA2 are carriers of RAD51D pathogenic variants. *Int J cancer.* 2014 May;134(9):2088–97.
45. Kobayashi H, Ohno S, Sasaki Y, Matsuura M. Hereditary breast and ovarian cancer susceptibility genes (review). *Oncol Rep.* 2013 Sep;30(3):1019–29.
46. Piffer A, Luporsi E, Mathelin C. [PALB2, a major susceptibility gene for breast cancer]. *Gynecol Obstet Fertil Senol.* 2018 Nov;46(10-11):701–5.
47. Graffeo R, Livraghi L, Pagani O, Goldhirsch A, Partridge AH, Garber JE. Time to incorporate germline multigene panel testing into breast and ovarian cancer patient care. *Breast Cancer Res Treat.* 2016 Dec;160(3):393–410.
48. Desmond A, Kurian AW, Gabree M, Mills MA, Anderson MJ, Kobayashi Y, et al. Clinical Actionability of Multigene Panel Testing for Hereditary Breast

- and Ovarian Cancer Risk Assessment. JAMA Oncol [Internet]. 2015 Oct 1 [cited 2018 Nov 9];1(7):943. Available from: <http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2015.2690>
49. Copur MS. Universal Genetic Testing for All Breast Cancer Patients. Oncology (Williston Park). 2019 Aug;33(8).
 50. Tavera-Tapia A, Perez-Cabornero L, Macias JA, Ceballos MI, Roncador G, de la Hoya M, et al. Almost 2% of Spanish breast cancer families are associated to germline pathogenic mutations in the ATM gene. Breast Cancer Res Treat. 2017 Feb;161(3):597–604.
 51. Jiménez-Escrig A, Gobernado I, Sánchez-Herranz A. Whole genome sequencing: A qualitative leap forward in genetic studies. Rev Neurol. 2012;54(11):692–8.
 52. Calabria I, Pedrola L, Berlanga P, Aparisi MJ, Sánchez-Izquierdo D, Cañete A, et al. The new challenge in oncology: Next-generation sequencing and its application in precision medicine. An Pediatr. 2016;85(5):273.e1–273.e7.
 53. Besser J, Carleton HA, Gerner-Smidt P, Lindsey RL, Trees E. Next-generation sequencing technologies and their application to the study and control of bacterial infections. Clin Microbiol Infect. 2018 Apr;24(4):335–41.
 54. Serrati S, De Summa S, Pilato B, Petriella D, Lacalamita R, Tommasi S, et al. Next-generation sequencing: advances and applications in cancer diagnosis. Onco Targets Ther. 2016;9:7355–65.
 55. Illumina. Quality Scores for Next-Generation Sequencing. Http://ResIlluminaCom/Documents/Products/Technotes/Technote_Q-

- ScoresPdf [Internet]. 2011;1–2. Available from: https://www.illumina.com/documents/products/technotes/technote_Q-Scores.pdf
56. Romero Alfonso A et al. Situación en España de la implementación de la secuenciación masiva en el diagnóstico genético de predisposición hereditaria a Cáncer Hereditario Mapa de Unidades de Asesoramiento Genético en Cáncer Hereditario Mapa de Laboratorios de Diagnóstico Genético [Internet]. AEGH. 2019 [cited 2019 Nov 11]. Available from: <https://aegh.org/wp-content/uploads/2019/05/Resultados-Encuesta-NGS-04.04.2019.pdf>
 57. Eccles DM, Mitchell G, Monteiro ANA, Schmutzler R, Couch FJ, Spurdle AB, et al. BRCA1 and BRCA2 genetic testing-pitfalls and recommendations for managing variants of uncertain clinical significance. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2015 Oct;26(10):2057–65.
 58. Spurdle AB. Enigma quantitative and qualitative classification criteria for evaluating the clinical significance of brca1 and BRCA2 sequence variants. *Asia Pac J Clin Oncol* [Internet]. 2016;12 (Supple:76. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/athens/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed18&AN=613440341>
 59. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015 May;17(5):405–24.
 60. Nykamp K, Anderson M, Powers M, Garcia J, Herrera B, Ho YY, et al.

-
- Sherloc: A comprehensive refinement of the ACMG-AMP variant classification criteria. *Genet Med*. 2017;19(10):1105–17.
61. Saphetor SA. Varsome Clinical- Saphetor [Internet]. 2019 [cited 2019 Nov 12]. Available from: <https://saphetor.com/varsome-editions/varsome-clinical/>
62. SOPHiA GENETICS. Sophia DDM Software [Internet]. 2019 [cited 2019 Nov 12]. Available from: <https://www.sophiagenetics.com/hospitals/sophia-ddm/sophia-ddmr-details.html>
63. Jelsig AM, Qvist N, Brusgaard K, Ousager LB. Research participants in NGS studies want to know about incidental findings. *Eur J Hum Genet*. 2015 Oct;23(10):1423–6.
64. Hehir-Kwa JY, Claustres M, Hastings RJ, van Ravenswaaij-Arts C, Christenhusz G, Genuardi M, et al. Towards a European consensus for reporting incidental findings during clinical NGS testing. *Eur J Hum Genet*. 2015 Dec;23(12):1601–6.
65. Green RC, Berg JS, Grody WW, Kalia SS, Korf BR, Martin CL, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med*. 2013 Jul;15(7):565–74.
66. Kalia SS, Adelman K, Bale SJ, Chung WK, Eng C, Evans JP, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2016 update (ACMG SF v2.0): a policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2017 Feb;19(2):249–55.
67. Hofmann B. Incidental findings of uncertain significance: To know or not to know--that is not the question. *BMC Med Ethics*. 2016 Feb;17:13.

-
68. Bennette CS, Gallego CJ, Burke W, Jarvik GP, Veenstra DL. The cost-effectiveness of returning incidental findings from next-generation genomic sequencing. *Genet Med*. 2015 Jul;17(7):587–95.
69. Michailidou K, Lindstrom S, Dennis J, Beesley J, Hui S, Kar S, et al. Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci. *Nature*. 2017 Nov;551(7678):92–4.
70. Li H, Feng B, Miron A, Chen X, Beesley J, Bimeh E, et al. Breast cancer risk prediction using a polygenic risk score in the familial setting: a prospective study from the Breast Cancer Family Registry and kConFab. *Genet Med*. 2017 Jan;19(1):30–5.
71. Li H, Feng B, Miron A, Chen X, Beesley J, Bimeh E, et al. Breast cancer risk prediction using a polygenic risk score in the familial setting: a prospective study from the Breast Cancer Family Registry and kConFab. *Genet Med*. 2017;19(1):30–5.
72. Dierssen-Sotos T, Gómez-Acebo I, Palazuelos C, Fernández-Navarro P, Altzibar JM, González-Donquiles C, et al. Validating a breast cancer score in Spanish women. The MCC-Spain study. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–8.
73. Novoa S F. Desafíos éticos en la investigación y aplicación clínica de la genética. *Rev Chil Neuropsiquiatr* [Internet]. 2007 Dec [cited 2019 Nov 4];45(4):305–13. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272007000400006&lng=en&nrm=iso&tlng=en
74. The National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research. The Belmont report: Ethical principles [Internet]. Vol. 10, Biochemistry. 1979. Available from:

- <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bi00780a005>
75. Bird JDP, Eversman M, Voisin DR. "You just can't trust everybody": the impact of sexual risk, partner type and perceived partner trustworthiness on HIV-status disclosure decisions among HIV-positive black gay and bisexual men. *Cult Health Sex*. 2017 Aug;19(8):829–43.
 76. Hallowell N, Foster C, Eeles R, Ardern-Jones A, Murday V, Watson M. Balancing autonomy and responsibility: the ethics of generating and disclosing genetic information. *J Med Ethics*. 2003 Apr;29(2):73–4.
 77. Pampols Ros T, Garcia Sagredo JM, Perez Aytes A, Diaz de Bustamante A. Directed to consumer genetic testing. Perspective from the Ethics commission of the Spanish Society for Human Genetics. *Med Clin (Barc)*. 2019 Jul;153(1):35–40.
 78. UNESCO. Declaración Universal sobre el Genoma y Derechos Humanos [Internet]. UNESCO.ORG. 1998 [cited 2019 Nov 14]. Available from: <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000110220.page=47>
 79. Rights H. A Council of Europe Convention for the protection of human rights and dignity of the human being with regard to the application of biology and medicine. *Eur J Health Law* [Internet]. 1994;1(4):381–416. Available from: <https://rm.coe.int/CoERMPublicCommonSearchServices/DisplayDCTMContent?documentId=090000168007cf98>
 80. UNESCO. Declaración Internacional de la UNESCO sobre los datos genéticos humanos [Internet]. UNESCO.ORG. 2003. Available from: http://portal.unesco.org/es/ev.php-URL_ID=13177&URL_DO=DO_TOPIC&URL_SECTION=201.html
 81. Consejo YEL, Unión DELA. Diario Oficial de las Comunidades Europeas.

- 2000;(7):31–50. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31995L0046&from=ES>
82. Fundamentales L de C de los D. Carta de los Derechos fundamentales de la unión. D Of la Unión Eur [Internet]. 2004;310:41–54. Available from: https://www.europarl.europa.eu/charter/pdf/text_es.pdf
83. Requena Casanova M. España ratifica el Convenio para la protección de los derechos humanos y la dignidad del ser humano con respecto a las aplicaciones de la biología y la medicina (Convenio relativo a los derechos humanos y a la biomedicina). Rev española derecho Int [Internet]. 1999;51(2):794–800. Available from: <https://www.boe.es/boe/dias/1999/10/20/pdfs/A36825-36830.pdf>
84. Parlamento Europeo. Directiva 98/44 CE Directiva Europea relativa a la protección jurídica de las invenciones biotecnológicas. Off J Eur Communities [Internet]. 1998;(9). Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:31998L0044&from=ES>
85. Directorate-General for Research and Innovation (European Commission). 25 recomendaciones sobre las repercusiones éticas, jurídicas y sociales de los tests genéticos [Internet]. Law and the human genome review = Revista de derecho y genoma humano / Chair in Law and the Human Genome, BBV Foundation-Provincial Government of Biscay, University of Deusto. 2005. 243-249 p. Available from: <https://op.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/53d84d00-5153-498e-9492-47f1fcae5d27/language-es#>
86. Recomendaci L, Humanos D, Fundamentales L, Europea CS, Social C,

- Revisada E, et al. Recomendación Rec (2006)19 del Comité de Ministros a los Estados Miembros sobre políticas de apoyo a la parentalidad positiva Informe explicativo 1. Objetivos y definiciones. 2006;1–19. Available from: <https://www.mscbs.gob.es/ssi/familiasInfancia/parentalidadPos2012/docs/informeRecomendacion.pdf>
87. OECD. Directrices de la OECD para garantizar la calidad de los estudios genéticos moleculares [Internet]. 2007. Available from: <https://www.oecd.org/sti/emerging-tech/40931429.pdf>
 88. The P, Community E, Protocol A, Rights H, Being H, Rights H, et al. Council of Europe. Additional Protocol to the Convention on Human Rights and Biomedicine, concerning genetic testing for health purposes. Eur J Health Law [Internet]. 2008;15(4):441–50. Available from: <https://rm.coe.int/CoERMPublicCommonSearchServices/DisplayDCTMContent?documentId=0900001680084824>
 89. Europeo P. Reglamento (UE) 2016/ 679 Ley de protección de datos. 2016;2014:88. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32016R0679&from=ES>
 90. Europeo ELP, Consejo EL, Uni DELA, Europeo P, Oficial D, Oficial D, et al. Productos sanitarios para diagnóstico in vitro. 2017;2017(4):176–332. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017R0746&from=ES>
 91. España. Ley orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. Boletín Of del Estado [Internet]. 1999;(298, 14 diciembre):43088–99. Available from: <https://www.boe.es/boe/dias/1999/12/14/pdfs/A43088-43099.pdf>

-
92. Ley 41/2002. Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. (Boletín Oficial del Estado, número 274, de 15-11-2002). Boletín Of del Estado [Internet]. 2002;274:40126–32. Available from: <https://www.boe.es/buscar/pdf/2002/BOE-A-2002-22188-consolidado.pdf>
93. Ministerio de Sanidad y Consumo España. Real Decreto 1030/2006, del 15 de Septiembre, por el que se establece la Cartera de Servicios Comunes del Sistema Nacional de Salud. Boletín Of del Estado [Internet]. 2006;(222, de septiembre 2006). Available from: <https://www.boe.es/buscar/pdf/2006/BOE-A-2006-16212-consolidado.pdf>
94. Estado JDEL. Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica (BOE, 4 de julio de 2007). Law Hum genome Rev = Rev derecho y genoma Hum / Chair Law Hum Genome, BBV Found Gov Biscay, Univ Deusto [Internet]. 2007;(26):283–325. Available from: <https://www.boe.es/boe/dias/2007/07/04/pdfs/A28826-28848.pdf>
95. Romeo Casabona CM. [Law of Biomedical Research in Spain: a new and complete map for clinical research]. Med Clin (Barc). 2009 May;132(16):633–7.
96. Carlos J, Garmendia Mendizábal C. Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano, y se regula e. Rev Derecho Genoma Hum [Internet]. 2012;(36):209–33. Available from: <https://www.boe.es/boe/dias/2011/12/02/pdfs/BOE-A-2011-18919.pdf>

97. Sanidad M DE, Sociales Igualdad SE. Disposición 11444 del BOE núm. 269 de 2014. 2014;91369–82. Available from: <https://www.boe.es/boe/dias/2014/11/06/pdfs/BOE-A-2014-11444.pdf>
98. Ministerio dela Presidencia. Real Decreto 639/2014 Troncalidad. BOE 2014 p. 63130–67.
99. Ministerio de Sanidad. El Ministerio de Sanidad acata la sentencia del Tribunal Supremo que declara nulo el Real Decreto 639 / 2014 de formación especializada troncal. 2016; Available from: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/formacion/docs/nota23_12_2016.pdf
100. Jefatura de Estado. Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. Boletín Of del Estado [Internet]. 2018;119778–857. Available from: <https://www.boe.es/eli/es/lo/2018/12/05/3>
101. Havlovicova M, Curtisova V, Subrt I. Unique characteristics of informed consent in clinical genetics and genetic counselling. Cas Lek Cesk. 2019;158(1):38–43.
102. Declaración de Helsinki. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Asoc Médica Mund [Internet]. 2008;1–8. Available from: <http://bvs.sld.cu/revistas/recursos/helsinki.pdf> \n http://www.reumatologia.org.ar/userfiles/file/investigacion-farmaco-clinica/inv_clinica_faltante.doc
103. Stoekle H-C, Deleuze J-F, Vogt G, Herve C. [Toward dynamic informed consent]. Med Sci (Paris). 2017 Feb;33(2):188–92.
104. La regulación española de los Comités de Ética y las novedades

- introducidas por la nueva Ley de Investigación Biomédica. *Rev bioética y derecho*. 2007;(11):17–21.
105. Bernhardt BA, Roche MI, Perry DL, Scollon SR, Tomlinson AN, Skinner D. Experiences with obtaining informed consent for genomic sequencing. *Am J Med Genet A*. 2015 Nov;167A(11):2635–46.
 106. Eijzenga W, Bleiker EMA, Hahn DEE, Van der Kolk LE, Sidharta GN, Aaronson NK. Prevalence and detection of psychosocial problems in cancer genetic counseling. *Fam Cancer*. 2015;
 107. Hospital La Princesa. Memoria 2017 Hospital Universitario de La Princesa. 2017; Available from: http://www.comunidad.madrid/sites/default/files/doc/sanidad/memo/memoria-2017_hprin_ok.pdf
 108. Roche. MagNA Pure LC 2.0 Instrument [Internet]. [cited 2019 Sep 25]. Available from: https://www.lifescience.roche.com/en_es/products/magna-pure-lc-2-0-instrument.html
 109. Roche. Sistema MagNA Pure 24 [Internet]. [cited 2019 Sep 25]. Available from: <http://www.distribuidoramuller.com.ar/equipos/roche/FolletoMagnaPure24.pdf>
 110. DNA NEXUS [Internet]. [cited 2018 Sep 29]. Available from: <https://www.dnanexus.com/>
 111. Altmann A, Weber P, Bader D, Preuss M, Binder EB, Muller-Myhsok B. A beginners guide to SNP calling from high-throughput DNA-sequencing data. *Hum Genet*. 2012 Oct;131(10):1541–54.
 112. Saphetor [Internet]. [cited 2018 Sep 29]. Available from: <https://saphetor.com/>

-
113. Clinical Varsome [Internet]. [cited 2018 Sep 29]. Available from:
<https://ch.clinical.varsome.com/dashboard/>
 114. SNPedia [Internet]. [cited 2019 May 6]. Available from:
<https://www.snpedia.com/index.php/SNPedia>
 115. Long J, Cai Q, Sung H, Shi J, Zhang B, Choi J-Y, et al. Genome-wide association study in east Asians identifies novel susceptibility loci for breast cancer. *PLoS Genet.* 2012;8(2):e1002532.
 116. Jack Cuzick (Centre for Cancer Prevention). IBIS Breast Cancer Risk Evaluation Tool vs 8.0 [Internet]. London; 2017 [cited 2019 Sep 10]. Available from: <http://www.ems-trials.org/riskevaluator/>
 117. IBM SPSS Statistics Base VS 22.0 [Internet]. IBM; 2013. Available from:
<https://ibm-spss-statistics-base.uptodown.com/windows>
 118. MEDCALC Statistical Software [Internet]. Available from:
<https://www.medcalc.org/index.php>
 119. Microsoft Office Excell [Internet]. Microsoft Corporation. Available from:
<https://products.office.com/es-es/home>
 120. Aoki S. BIORENDER [Internet]. Biorender. 2017 [cited 2019 Nov 22]. Available from: <https://biorender.com/>
 121. Evers C, Fischer C, Dikow N, Schott S. Familial breast cancer: Genetic counseling over time, including patients expectations and initiators considering the Angelina Jolie effect. *PLoS One.* 2017;12(5):e0177893.
 122. Salud SM de, Sanidad C de. Dinámica demográfica- Piramide poblacional Comunidad de Madrid [Internet]. Servicio Madrileño de Salud. 2018. Available from:
<http://observatorioresultados.sanidadmadrid.org/GraficosEstadoPoblacion>

.aspx?ID=2

123. Marquez-Rodas I, Lopez-Tarruella S, Jerez Y, Cavanagh M, Custodio S, Lopez-Trabada D, et al. Evaluation of a heredofamilial cancer unit in increasing family history collection and genetic counseling referrals among Spanish oncologists at a university hospital. *J Genet Couns*. 2014 Feb;23(1):108–13.
124. Lindor NM, McMaster ML, Lindor CJ, Greene MH. Concise handbook of familial cancer susceptibility syndromes: Second edition. *J Natl Cancer Inst - Monogr*. 2008;2008(38):1–93.
125. Beristain E, Martinez-Bouzas C, Guerra I, Viguera N, Moreno J, Ibanez E, et al. Differences in the frequency and distribution of BRCA1 and BRCA2 mutations in breast/ovarian cancer cases from the Basque country with respect to the Spanish population: implications for genetic counselling. *Breast Cancer Res Treat*. 2007 Dec;106(2):255–62.
126. Wood ME, Kadlubek P, Pham TH, Wollins DS, Lu KH, Weitzel JN, et al. Quality of cancer family history and referral for genetic counseling and testing among oncology practices: a pilot test of quality measures as part of the American Society of Clinical Oncology Quality Oncology Practice Initiative. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2014 Mar;32(8):824–9.
127. Meyer LA, Anderson ME, Lacour RA, Suri A, Daniels MS, Urbauer DL, et al. Evaluating women with ovarian cancer for BRCA1 and BRCA2 mutations: missed opportunities. *Obstet Gynecol*. 2010 May;115(5):945–52.
128. Stuckey A, Febbraro T, Laprise J, Wilbur JS, Lopes V, Robison K. Adherence Patterns to National Comprehensive Cancer Network

-
- Guidelines for Referral of Women With Breast Cancer to Genetics Professionals. *Am J Clin Oncol*. 2016 Aug;39(4):363–7.
129. Arpino G, Pensabene M, Condello C, Ruocco R, Cerillo I, Lauria R, et al. Tumor characteristics and prognosis in familial breast cancer. *BMC Cancer*. 2016 Nov;16(1):924.
130. Vig HS, McCarthy AM, Liao K, Demeter MB, Fredericks T, Armstrong K. Age at diagnosis may trump family history in driving BRCA testing in a population of breast cancer patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013 Oct;22(10):1778–85.
131. Figueiredo JC, Ennis M, Knight JA, McLaughlin JR, Hood N, O'Malley F, et al. Influence of young age at diagnosis and family history of breast or ovarian cancer on breast cancer outcomes in a population-based cohort study. *Breast Cancer Res Treat*. 2007 Sep;105(1):69–80.
132. Gonzalez-Jimenez E, Garcia PA, Aguilar MJ, Padilla CA, Alvarez J. Breastfeeding and the prevention of breast cancer: a retrospective review of clinical histories. *J Clin Nurs*. 2014 Sep;23(17-18):2397–403.
133. Anderson KN, Schwab RB, Martinez ME. Reproductive risk factors and breast cancer subtypes: a review of the literature. *Breast Cancer Res Treat*. 2014 Feb;144(1):1–10.
134. Lobo M, análisis Histórico-Médico U. Evolución de la atención de pacientes con cáncer de mama y riesgo genético en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón: impacto de la implementación de una unidad multidisciplinar de cáncer heredofamiliar. Vol. 120, UCM. 2018.
135. DeMarco TA, McKinnon WC. Life after BRCA1/2 testing: family communication and support issues. *Breast Dis*. 2007;27:127–36.

-
136. Patenaude AF, Dorval M, DiGianni LS, Schneider KA, Chittenden A, Garber JE. Sharing BRCA1/2 test results with first-degree relatives: factors predicting who women tell. *J Clin Oncol*. 2006 Feb;24(4):700–6.
 137. Schott S, Vetter L, Keller M, Bruckner T, Golatta M, Eismann S, et al. Women at familial risk of breast cancer electing for prophylactic mastectomy: frequencies, procedures, and decision-making characteristics. *Arch Gynecol Obstet*. 2017 Jun;295(6):1451–8.
 138. Johns D, Agarwal J, Anderson L, Ying J, Kohlmann W. Breast Cancer Risk Reduction Decisions of the BRCA-Positive Patient: An Observational Study at a Single Institution. *J Womens Health (Larchmt)*. 2017 Jun;26(6):702–6.
 139. Li X, You R, Wang X, Liu C, Xu Z, Zhou J, et al. Effectiveness of Prophylactic Surgeries in BRCA1 or BRCA2 Mutation Carriers: A Meta-analysis and Systematic Review. *Clin Cancer Res*. 2016 Aug;22(15):3971–81.
 140. Infante M, Duran M, Esteban-Cardenosa E, Miner C, Velasco E. High proportion of novel mutations of BRCA1 and BRCA2 in breast/ovarian cancer patients from Castilla-Leon (central Spain). *J Hum Genet*. 2006;51(7):611–7.
 141. Pajares B, Porta J, Porta JM, Sousa CF, Moreno I, Porta D, et al. Hereditary breast and ovarian cancer in Andalusian families: a genetic population study. *BMC Cancer*. 2018 Jun;18(1):647.
 142. Márquez-Rodas I, Lobo M, Flores-Sanchez C, Sanz M, Luque S, Lizarraga S, et al. Five Years of Multidisciplinary Care in Hereditary Cancer: Our Experience in a Spanish University Hospital. *Oncol*. 2017;92(2):68–74.
 143. Moller P, Stormorken A, Holmen MM, Hagen AI, Vabo A, Maehle L. The

- clinical utility of genetic testing in breast cancer kindreds: a prospective study in families without a demonstrable BRCA mutation. *Breast Cancer Res Treat.* 2014 Apr;144(3):607–14.
144. Wright M, Menon V, Taylor L, Shashidharan M, Westercamp T, Ternent CA. Factors predicting reclassification of variants of unknown significance. *Am J Surg.* 2018 Dec;216(6):1148–54.
145. Familial breast cancer: collaborative reanalysis of individual data from 52 epidemiological studies including 58,209 women with breast cancer and 101,986 women without the disease. *Lancet (London, England).* 2001 Oct;358(9291):1389–99.
146. van Marcke C, Collard A, Vikkula M, Duhoux FP. Prevalence of pathogenic variants and variants of unknown significance in patients at high risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis of gene-panel data. Vol. 132, *Critical Reviews in Oncology/Hematology.* 2018. p. 138–44.
147. Cock-Rada AM, Ossa CA, Garcia HI, Gomez LR. A multi-gene panel study in hereditary breast and ovarian cancer in Colombia. *Fam Cancer.* 2018;17(1):23–30.
148. Lhota F, Zemankova P, Kleiblova P, Soukupova J, Vocka M, Stranecky V, et al. Hereditary truncating mutations of DNA repair and other genes in BRCA1/BRCA2/PALB2-negatively tested breast cancer patients. *Clin Genet.* 2016;90(4):324–33.
149. Maxwell KN, Wubbenhorst B, D'Andrea K, Garman B, Long JM, Powers J, et al. Prevalence of mutations in a panel of breast cancer susceptibility genes in BRCA1/2-negative patients with early-onset breast cancer. *Genet Med.* 2015;17(8):630–8.

-
150. Darder Bernabeu E. et al. Rendimiento de la ampliación a un estudio basado en un panel de genes en familias con Cáncer de Mama y Ovario Hereditario (CMOH) y resultado previo de BRCA1 y BRCA2 no informativo. In: CONGRESO SEOM [Internet]. Madrid; 2018. p. 3. Available from: https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/SEOM2018/Libro_Co_municaciones_2018.pdf
 151. Foley SB, Rios JJ, Mgbemena VE, Robinson LS, Hampel HL, Toland AE, et al. Use of Whole Genome Sequencing for Diagnosis and Discovery in the Cancer Genetics Clinic. *EBioMedicine*. 2015 Jan;2(1):74–81.
 152. Lilyquist J, LaDuca H, Polley E, Davis BT, Shimelis H, Hu C, et al. Frequency of mutations in a large series of clinically ascertained ovarian cancer cases tested on multi-gene panels compared to reference controls. *Gynecol Oncol*. 2017;147(2):375–80.
 153. Osorio A. Manejo médico de las pacientes con mutación en PALB2 , ATM y CHEK2. In: JORNADA EN CANCER DE MAMA HEREDITARIO [Internet]. Madrid: SEOM; 2019. Available from: https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/VJornadaCancerMamaHereditario/5_WORKSHOP_2_GEMMA_LLORT_ANA_OSORIO_Manejo_medico_de_las_pacientes_con_mutacion_en_PALB2_ATM_CHEK2.pdf
 154. Gupta S, Provenzale D, Llor X, Halverson AL, Grady W, Chung DC, et al. Genetic/Familial high-risk assessment: Colorectal, version 2.2019 featured updates to the NCCN guidelines. *JNCCN J Natl Compr Cancer Netw*. 2019;17(9):1032–41.
 155. Roeb W, Higgins J, King MC. Response to DNA damage of CHEK2

- missense mutations in familial breast cancer. *Hum Mol Genet.* 2012;21(12):2738–44.
156. Muranen TA, Mavaddat N, Khan S, Fagerholm R, Pelttari L, Lee A, et al. Polygenic risk score is associated with increased disease risk in 52 Finnish breast cancer families. *Breast Cancer Res Treat.* 2016;158(3):463–9.
157. Zhang X, Rice M, Tworoger SS, Rosner BA, Eliassen AH, Tamimi RM, et al. Addition of a polygenic risk score, mammographic density, and endogenous hormones to existing breast cancer risk prediction models: A nested case–control study. *PLoS Med.* 2018;15(9).
158. Robson ME, Reiner AS, Brooks JD, Concannon PJ, John EM, Mellemkjaer L, et al. Association of Common Genetic Variants with Contralateral Breast Cancer Risk in the WECARE Study. *J Natl Cancer Inst.* 2017;109(10).
159. Riley JD, Procop GW, Kottke-Marchant K, Wyllie R, Lachawan FL. Improving Molecular Genetic Test Utilization through Order Restriction, Test Review, and Guidance. *J Mol Diagn.* 2015 May;17(3):225–9.
160. Suryavanshi M, Kumar D, Panigrahi MK, Chowdhary M, Mehta A. Detection of false positive mutations in BRCA gene by next generation sequencing. *Fam Cancer* [Internet]. 2017 Jul 15 [cited 2018 Nov 9];16(3):311–7. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10689-016-9955-8>
161. Soto JL, Blanco I, Diez O, Garcia Planells J, Lorda I, Matthijs G, et al. Consensus document on the implementation of next generation sequencing in the genetic diagnosis of hereditary cancer. *Med Clin (Barc).* 2018 Jul;151(2):80.e1–80.e10.
162. Li Y, Arellano AR, Bare LA, Bender RA, Strom CM, Devlin JJ. A Multigene

Test Could Cost-Effectively Help Extend Life Expectancy for Women at Risk of Hereditary Breast Cancer. Value Heal J Int Soc Pharmacoeconomics Outcomes Res. 2017 Apr;20(4):547–55.

X. ANEXOS

Anexo I. Aprobación del estudio experimental por el Comité de Ética de La Investigación del HULPR

COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

Madrid, a 13 de Febrero de 2018

El **Comité de Ética de La Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario de la Princesa** tras evaluar la respuesta a las aclaraciones solicitadas en la reunión del 25-01-2017 (acta CEIm 01/18) del siguiente proyecto de investigación:

TÍTULO: Rastreo mutacional de variantes genéticas en pacientes de alto riesgo con síndrome hereditario de cáncer de mama y ovario familiar. Versión 3.

TIPO: Proyecto de investigación

Nº de Registro: 3320

Investigador Principal: Natalia Pascual Gómez, Concepción Alonso Cerezo (Servicio de Análisis Clínicos)

DECISIÓN TOMADA: Aprobación (8-02-18, acta CEIm 02/18)

Este **Comité de Ética de La Investigación con Medicamentos** considera que tanto el **proyecto de investigación** como la **Hoja de información al paciente y Consentimiento informado** son **ética y metodológicamente aceptables**. Asimismo, considera que los investigadores son competentes para llevar a cabo este proyecto que está enmarcado dentro de las líneas de investigación prioritarias del Hospital Universitario de La Princesa.

Firmado por ORTEGA GOMEZ
MARIA DEL MAR - 52114122D
el día 14/02/2018 con un
certificado emitido por AC
FNMT Usuarios

SECRETARIA DEL CEIm

Anexo II. Cálculo de los Scores de riesgo de las 47 pacientes del estudio experimental.

<i>Polimorfismos</i>	Cigosidad	OR	IC95%	Scores	Paciente 1			BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
					Scores (IC 95%)					
<i>rs4973768</i>	2	1,07	1,01	1,13	0,14	0,02	0,24	4,56	3,10	6,00
<i>rs889312</i>	1	1,09	1,04	1,14	0,09	0,04	0,13			
<i>rs2046210</i>	2	1,05	1	1,1	0,10	0,00	0,19			
<i>rs1562430</i>	1	1,17	1,1	1,25	0,16	0,10	0,22			
<i>rs865686</i>	1	1,12	1,1	1,14	0,11	0,10	0,13			
<i>rs2981582</i>	2	1,18	1,12	1,24	0,33	0,23	0,43			
<i>rs3803662</i>	2	1,12	1,1	1,14	0,23	0,19	0,26			
<i>rs704010</i>	2	1,07	1,03	1,11	0,14	0,06	0,21			
<i>RS2981579</i>	2	1,43	1,35	1,53	0,72	0,60	0,85			
<i>rs2072590</i>	2	1,08	1,05	1,11	0,15	0,10	0,21			
<i>rs4415084</i>	1	1,17	1,11	1,22	0,16	0,10	0,20			
<i>rs2180341</i>	2	1,41	1,25	1,59	0,69	0,45	0,93			
<i>rs10088218</i>	1	1,29	1,21	1,36	0,25	0,19	0,31			
<i>rs3814113</i>	2	1,28	1,23	1,33	0,49	0,41	0,57			
<i>rs10822013</i>	1	1,12	1,06	1,18	0,11	0,06	0,17			
<i>rs2981575</i>	2	1,28	1,18	1,39	0,49	0,33	0,66			
<i>rs3817198</i>	1	1,07	1,04	1,11	0,07	0,04	0,10			
<i>rs3112612</i>	1	1,15	1,1	1,21	0,14	0,10	0,19			

Polimorfismos	OR	IC95%	Cigosidad	Scores	Paciente 2		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)		
					Scores (IC 95%)					
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,13	0,08	0,18	2,85	1,87	3,85
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
rs704010	1,07	1,03	1,11	1	0,07	0,03	0,10			
RS13281615	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	1	0,34	0,22	0,46			
rs10088218	1,29	1,21	1,36	2	0,51	0,38	0,61			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			

Polimorfismo	OR	IC 95%	Cigosidad	Scores	Paciente 3			BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
					Scores (IC 95%)					
rs11249433	1,14	1,08	1,2	2	0,262	0,154	0,365	3,953	2,489	5,480
rs13387042	1,2	1,14	1,26	2	0,365	0,262	0,462			
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
rs889312	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
rs2046210	1,05	1	1,1	2	0,098	0,000	0,191			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	2	0,314	0,191	0,446			
rs1011970	1,06	1,01	1,12	1	0,058	0,010	0,113			
rs865686	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			

<i>rs10995190</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Paciente 4

Polimorfismos	Cigosidad	OR	IC95%	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)		
rs11249433	1	1,14	1,08	1,2	0,13	0,08	0,18	3,07	1,93	4,29
rs13387042	1	1,2	1,14	1,26	0,18	0,13	0,23			
rs889312	2	1,09	1,04	1,14	0,17	0,08	0,26			
rs1562430	1	1,17	1,1	1,25	0,16	0,10	0,22			
rs1011970	1	1,06	1,01	1,12	0,06	0,01	0,11			
rs865686	2	1,12	1,1	1,14	0,23	0,19	0,26			
rs3803662	2	1,12	1,1	1,14	0,23	0,19	0,26			
RS13281615	1	1,08	1,05	1,11	0,08	0,05	0,10			
rs2072590	2	1,08	1,05	1,11	0,15	0,10	0,21			
rs4415084	1	1,17	1,11	1,22	0,16	0,10	0,20			
rs2180341	2	1,41	1,25	1,59	0,69	0,45	0,93			
rs3814113	1	1,28	1,23	1,33	0,25	0,21	0,29			
rs10822013	2	1,12	1,06	1,18	0,23	0,12	0,33			

rs1219648

2	1,2	1,07	1,42	0,36	0,14	0,70			
---	-----	------	------	------	------	------	--	--	--

Polimorfismos	Cigosidad	OR	IC95%		Paciente 5			BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
					Scores	Scores (IC 95%)				
rs13387042	1	1,2	1,14	1,26	0,18	0,13	0,23	3,47	2,18	4,81
rs10069690	1	1,08	1,03	1,13	0,08	0,03	0,12			
rs889312	2	1,09	1,04	1,14	0,17	0,08	0,26			
rs865686	2	1,12	1,1	1,14	0,23	0,19	0,26			
rs10995190	1	1,12	1,1	1,14	0,11	0,10	0,13			
rs2981582	1	1,18	1,12	1,24	0,17	0,11	0,22			
rs3803662	1	1,12	1,1	1,14	0,11	0,10	0,13			
rs8170	1	1,12	1,07	1,17	0,11	0,07	0,16			
rs704010	2	1,07	1,03	1,11	0,14	0,06	0,21			
RS13281615	1	1,08	1,05	1,11	0,08	0,05	0,10			
RS2981579	1	1,43	1,35	1,53	0,36	0,30	0,43			
rs2072590	1	1,08	1,05	1,11	0,08	0,05	0,10			
rs4415084	1	1,17	1,11	1,22	0,16	0,10	0,20			
rs2180341	2	1,41	1,25	1,59	0,69	0,45	0,93			
rs9485372	1	0,9	0,87	0,92	-0,11	-0,14	-0,08			
rs10822013	1	1,12	1,06	1,18	0,11	0,06	0,17			
rs2981575	1	1,28	1,18	1,39	0,25	0,17	0,33			
rs1219648	1	1,2	1,07	1,42	0,18	0,07	0,35			
rs3817198	1	1,07	1,04	1,11	0,07	0,04	0,10			
rs4784227	1	1,19	1,09	1,31	0,17	0,09	0,27			
rs3112612	1	1,15	1,1	1,21	0,14	0,10	0,19			

Paciente 6										
<i>Polimorfismos</i>	<i>Cigosidad</i>	<i>OR</i>	<i>IC95%</i>	<i>Scores</i>	<i>Scores (IC 95%)</i>	<i>BCS según fórmula de Hongyan Li</i>		<i>BCS (IC 95%)</i>		
<i>rs11249433</i>	1	1,14	1,08	1,2	0,13	0,08	0,18	3,35	1,94	4,98
<i>rs13387042</i>	2	1,2	1,14	1,26	0,36	0,26	0,46			
<i>rs4973768</i>	2	1,07	1,01	1,13	0,14	0,02	0,24			
<i>rs889312</i>	1	1,09	1,04	1,14	0,09	0,04	0,13			
<i>rs2046210</i>	2	1,05	1	1,1	0,10	0,00	0,19			
<i>rs1011970</i>	1	1,06	1,01	1,12	0,06	0,01	0,11			
<i>rs3803662</i>	1	1,21	1,15	1,27	0,19	0,14	0,24			
<i>rs8170</i>	1	1,06	1,07	1,17	0,06	0,07	0,16			
<i>rs704010</i>	2	1,07	1,03	1,11	0,14	0,06	0,21			
<i>rs13281615</i>	2	1,08	1,05	1,11	0,15	0,10	0,21			
<i>rs2072590</i>	1	1,13	1,09	1,18	0,12	0,09	0,17			
<i>rs4415084</i>	1	1,17	1,11	1,22	0,16	0,10	0,20			
<i>rs2180341</i>	1	1,41	1,25	1,59	0,34	0,22	0,46			
<i>rs3814113</i>	1	1,28	1,23	1,33	0,25	0,21	0,29			
<i>rs10822013</i>	1	1,12	1,06	1,18	0,11	0,06	0,17			
<i>rs1219648</i>	2	1,2	1,07	1,42	0,36	0,14	0,70			
<i>rs3817198</i>	2	1,07	1,04	1,11	0,14	0,08	0,21			
<i>rs4784227</i>	1	1,19	1,09	1,31	0,17	0,09	0,27			
<i>rs3112612</i>	2	1,15	1,1	1,21	0,28	0,19	0,38			

Paciente 7										
<i>Polimorfismos</i>	OR	IC95%	Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)		
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231	3,465	2,247	4,749
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	2	0,135	0,020	0,244			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	1	0,113	0,068	0,157			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	2	0,715	0,600	0,851			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Paciente 8								
<i>Polimorfismo</i>	OR	IC 95%	Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)

<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	2	0,262	0,154	0,365	3,958	2,452	5,509
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	2	0,098	0,000	0,191			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	1	0,157	0,095	0,223			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,227	0,117	0,331			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	2	0,135	0,078	0,209			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Paciente 9

Polimorfismos	OR	IC95%		Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
rs11249433	1,14	1,08	1,20	1	0,13	0,08	0,18	3,69	2,24	5,22
rs13387042	1,20	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23			

<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	2	0,14	0,02	0,24			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,10	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
<i>rs1011970</i>	1,06	1,01	1,12	1	0,06	0,01	0,11			
<i>rs865686</i>	1,12	1,10	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs10995190</i>	1,12	1,10	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
<i>rs614367</i>	1,13	1,07	1,19	1	0,12	0,07	0,17			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,10	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,14	0,06	0,21			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs13393577</i>	1,53	1,37	1,70	1	0,43	0,31	0,53			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,11	0,06	0,17			
<i>rs1219648</i>	1,20	1,07	1,42	2	0,36	0,14	0,70			

Paciente 10

Polimorfismos	Cigotidad	OR	IC95%		Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
rs11249433	2	1,14	1,08	1,2	0,26	0,15	0,36	3,59	2,09	5,20
rs4973768	1	1,07	1,01	1,13	0,07	0,01	0,12			
rs10069690	1	1,08	1,03	1,13	0,08	0,03	0,12			
rs889312	1	1,09	1,04	1,14	0,09	0,04	0,13			
rs865686	1	1,12	1,1	1,14	0,11	0,10	0,13			
rs2981582	1	1,18	1,12	1,24	0,17	0,11	0,22			
rs614367	2	1,13	1,07	1,19	0,24	0,14	0,35			
rs8170	1	1,12	1,07	1,17	0,11	0,07	0,16			

<i>rs704010</i>	1	1,07	1,03	1,11	0,07	0,03	0,10			
<i>RS13281615</i>	2	1,08	1,05	1,11	0,15	0,10	0,21			
<i>rs2072590</i>	1	1,13	1,09	1,18	0,12	0,09	0,17			
<i>rs2180341</i>	2	1,41	1,25	1,59	0,69	0,45	0,93			
<i>rs10088218</i>	1	1,29	1,21	1,36	0,25	0,19	0,31			
<i>rs10822013</i>	1	1,12	1,06	1,18	0,11	0,06	0,17			
<i>rs1219648</i>	2	1,2	1,07	1,42	0,36	0,14	0,70			
<i>rs3817198</i>	1	1,07	1,04	1,11	0,07	0,04	0,10			
<i>rs4784227</i>	2	1,19	1,09	1,31	0,35	0,17	0,54			
<i>rs3112612</i>	2	1,15	1,1	1,21	0,28	0,19	0,38			

Polimorfismo	OR	IC 95%	Cigosis	Scores	Paciente 11			BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
					Scores	Scores	Scores			
						(IC 95%)				
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231	4,012	2,627	5,430
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	2	0,135	0,020	0,244			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	2	0,098	0,000	0,191			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs614367</i>	1,13	1,07	1,19	1	0,122	0,068	0,174			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	1	0,113	0,068	0,157			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	2	0,314	0,209	0,398			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			

<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	2	0,494	0,414	0,570			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	2	0,135	0,078	0,209			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Polimorfismo	Paciente 12							BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
	OR	IC 95%		Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)				
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	4,252	2,711	5,796
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
rs10069690	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,157	0,095	0,223			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	2	0,331	0,227	0,430			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
rs8170	1,12	1,07	1,17	2	0,227	0,135	0,314			
rs704010	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
RS13281615	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	2	0,715	0,600	0,851			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
rs9485372	0,9	0,87	0,92	1	-0,105	-0,139	-0,083			
rs3814113	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	2	0,494	0,331	0,659			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
rs4784227	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

<i>Polimorfismo</i>	Paciente 13									
	OR	IC 95%		Cigoidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	2	0,262	0,154	0,365	3,879	2,476	5,149
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	2	0,365	0,262	0,462			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	1	0,157	0,095	0,223			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs10995190</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,280	0,191	0,381			

Paciente 14										
<i>Polimorfismos</i>	OR	IC95%		Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231	3,505	2,108	4,944
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	2	0,135	0,020	0,244			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	1	0,113	0,068	0,157			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs9485372</i>	0,9	0,87	0,92	1	-0,105	-0,139	-0,083			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	2	0,348	0,172	0,540			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,280	0,191	0,381			

Paciente 15										
<i>Polimorfismos</i>	Cigosidad	OR	IC95%		Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)
<i>rs13387042</i>	1	1,2	1,14	1,26	0,18	0,13	0,23	3,06	2,05	4,04
<i>rs4973768</i>	2	1,08	1,03	1,13	0,15	0,06	0,24			
<i>rs10069690</i>	1	1,09	1,04	1,14	0,09	0,04	0,13			
<i>rs889312</i>	2	1,12	1,1	1,14	0,23	0,19	0,26			

<i>rs2046210</i>	1	1,16	1,1	1,22	0,15	0,10	0,20			
<i>rs865686</i>	1	1,18	1,12	1,24	0,17	0,11	0,22			
<i>rs10995190</i>	1	1,12	1,1	1,14	0,11	0,10	0,13			
<i>rs3803662</i>	2	1,12	1,07	1,17	0,23	0,14	0,31			
<i>rs704010</i>	1	1,07	1,03	1,11	0,07	0,03	0,10			
<i>RS13281615</i>	2	1,08	1,05	1,11	0,15	0,10	0,21			
<i>rs2180341</i>	2	1,43	1,35	1,53	0,72	0,60	0,85			
<i>rs9485372</i>	1	1,08	1,05	1,11	0,08	0,05	0,10			
<i>rs10822013</i>	1	1,17	1,11	1,22	0,16	0,10	0,20			
<i>rs1219648</i>	2	1,41	1,25	1,59	0,69	0,45	0,93			
<i>rs3817198</i>	1	0,9	0,87	0,92	-0,11	-0,14	-0,08			

Polimorfismo	Paciente 16									
	OR	IC 95%	Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)			
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	2	0,262	0,154	0,365	3,196	1,886	4,554
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	2	0,135	0,020	0,244			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs10995190</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs614367</i>	1,13	1,07	1,19	1	0,122	0,068	0,174			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			

<i>rs9485372</i>	0,9	0,87	0,92	1	-0,105	-0,139	-0,083			
<i>rs10088218</i>	1,29	1,21	1,36	1	0,255	0,191	0,307			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,227	0,117	0,331			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	2	0,365	0,135	0,701			

Paciente 17

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigosisidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231	3,567	2,234	4,947
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	2	0,314	0,191	0,446			
rs1011970	1,06	1,01	1,12	1	0,058	0,010	0,113			
rs865686	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
rs10995190	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
rs614367	1,13	1,07	1,19	1	0,122	0,068	0,174			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
rs704010	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
RS13281615	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			
rs9485372	0,9	0,87	0,92	1	-0,105	-0,139	-0,083			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			

<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Polimorfismo	Paciente 18									
	OR	IC 95%	Cigosisdad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)		
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	4,049	2,756	5,353
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	2	0,331	0,227	0,430			
<i>rs614367</i>	1,13	1,07	1,19	1	0,122	0,068	0,174			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	1	0,113	0,068	0,157			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	2	0,715	0,600	0,851			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,227	0,117	0,331			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	2	0,494	0,331	0,659			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	2	0,135	0,078	0,209			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Polimorfismo	OR	IC 95%	Cigosidad	Scores	Paciente 19			BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
					Scores (IC 95%)					
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122	3,278	1,891	4,677
rs10069690	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	2	0,314	0,191	0,446			
rs865686	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
rs614367	1,13	1,07	1,19	1	0,122	0,068	0,174			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
rs704010	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	2	0,314	0,209	0,398			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
rs9485372	0,9	0,87	0,92	2	-0,211	-0,279	-0,167			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigosidad	Scores	Paciente 20		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
						Scores (IC 95%)				
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	3,788	2,389	5,216
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
rs10069690	1,08	1,03	1,13	2	0,154	0,059	0,244			
rs889312	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
rs865686	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
rs704010	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
RS13281615	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
rs9485372	0,9	0,87	0,92	1	-0,105	-0,139	-0,083			
rs10088218	1,29	1,21	1,36	1	0,255	0,191	0,307			
rs3814113	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
rs4784227	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Polimorfismo	Paciente 21									
	OR	IC 95%		Cigiosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	3,490	2,103	4,917
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	2	0,135	0,020	0,244			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	2	0,314	0,191	0,446			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs9485372</i>	0,9	0,87	0,92	1	-0,105	-0,139	-0,083			
<i>rs10088218</i>	1,29	1,21	1,36	1	0,255	0,191	0,307			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			

<i>Polimorfismo</i>	Paciente 22									
	OR	IC 95%		Cigiosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	3,820	2,494	5,193
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	2	0,365	0,262	0,462			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	1	0,157	0,095	0,223			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,227	0,117	0,331			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Polimorfismos	Paciente 23									
	OR	IC95%		Cigosisdad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,13	0,08	0,18	4,30	2,71	5,92
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23			
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
rs10069690	1,08	1,03	1,13	1	0,08	0,03	0,12			
rs889312	1,09	1,04	1,14	1	0,09	0,04	0,13			
rs2046210	1,05	1	1,1	2	0,10	0,00	0,19			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
rs865686	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs704010	1,07	1,03	1,11	2	0,14	0,06	0,21			
RS13281615	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
rs10088218	1,29	1,21	1,36	1	0,25	0,19	0,31			
rs3814113	1,28	1,23	1,33	1	0,25	0,21	0,29			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			
rs4784227	1,19	1,09	1,31	1	0,17	0,09	0,27			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,14	0,10	0,19			

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigosidad	Scores	Paciente 24		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
						Scores	Scores (IC 95%)			
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	3,316	2,199	4,501
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
rs10069690	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
rs889312	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,157	0,095	0,223			
rs1011970	1,06	1,01	1,12	1	0,058	0,010	0,113			
rs865686	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
rs614367	1,13	1,07	1,19	1	0,122	0,068	0,174			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
RS13281615	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			
rs3814113	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigosidad	Scores	Paciente 25		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
						Scores (IC 95%)				
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23	4,02	2,54	5,55
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
rs10069690	1,08	1,03	1,13	2	0,15	0,06	0,24			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
rs865686	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
rs10995190	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs8170	1,12	1,07	1,17	1	0,11	0,07	0,16			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	2	0,31	0,21	0,40			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	1	0,11	0,06	0,17			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	2	0,14	0,08	0,21			
rs4784227	1,19	1,09	1,31	1	0,17	0,09	0,27			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,14	0,10	0,19			

Paciente 26										
Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigrosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	3,684	2,299	5,101
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,157	0,095	0,223			
rs865686	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
rs614367	1,13	1,07	1,19	1	0,122	0,068	0,174			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
rs9485372	0,9	0,87	0,92	1	-0,105	-0,139	-0,083			
rs10088218	1,29	1,21	1,36	1	0,255	0,191	0,307			
rs3814113	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	2	0,227	0,117	0,331			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
rs4784227	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Polimorfismo	Paciente 27									
	OR	IC 95%		Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23	4,03	2,62	5,50
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,09	0,04	0,13			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	2	0,31	0,19	0,45			
<i>rs1011970</i>	1,06	1,01	1,12	1	0,06	0,01	0,11			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
<i>rs614367</i>	1,13	1,07	1,19	2	0,24	0,14	0,35			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,14	0,06	0,21			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,34	0,22	0,46			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	2	0,49	0,41	0,57			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,17	0,09	0,27			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,28	0,19	0,38			

Polimorfismo	Paciente 28									
	OR	IC 95%		Cigoidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	3,203	2,167	4,296
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	2	0,715	0,600	0,851			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Polimorfismo	Paciente 29									
	OR	IC 95%		Cigoidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	2	0,26	0,15	0,36	4,23	2,63	5,88
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	1	0,08	0,03	0,12			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			

<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,14	0,06	0,21			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
<i>rs10088218</i>	1,29	1,21	1,36	1	0,25	0,19	0,31			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	2	0,35	0,17	0,54			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,28	0,19	0,38			

<i>Polimorfismo</i>	Paciente 30							BCS según fórmula de Hongyan Li		
	OR	IC 95%	Cigrosidad	Scores	Scores (IC 95%)					
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12	3,82	2,42	5,29
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	1	0,08	0,03	0,12			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,09	0,04	0,13			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>rs10995190</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			

<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,25	0,21	0,29			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	2	0,35	0,17	0,54			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,28	0,19	0,38			

Polimorfismo	Paciente 31									
	OR	IC 95%	Cigosis	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)		
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	4,139	2,674	5,661
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	2	0,314	0,191	0,446			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs13393577</i>	1,53	1,37	1,7	1	0,425	0,315	0,531			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs9485372</i>	0,9	0,87	0,92	1	-0,105	-	-0,083			
						0,139				
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			

<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,280	0,191	0,381			

Polimorfismo	OR	IC 95%	Cigosi dad	Scores	Paciente 32			BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
					Scores (IC 95%)					
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,13	0,08	0,18	4,34	2,87	5,81
rs13387042	1,2	1,14	1,26	2	0,36	0,26	0,46			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	2	0,31	0,19	0,45			
rs865686	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
rs10995190	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	2	0,33	0,23	0,43			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs704010	1,07	1,03	1,11	2	0,14	0,06	0,21			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	2	0,72	0,60	0,85			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	1	0,34	0,22	0,46			
rs9485372	0,9	0,87	0,92	1	-0,11	-0,14	-0,08			
rs10088218	1,29	1,21	1,36	1	0,25	0,19	0,31			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	2	0,49	0,33	0,66			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			
rs4784227	1,19	1,09	1,31	1	0,17	0,09	0,27			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,14	0,10	0,19			

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigosidad	Scores	Paciente 33		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
						Scores (IC 95%)				
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231	3,119	1,962	4,345
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
rs10069690	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
rs889312	1,09	1,04	1,14	1	0,086	0,039	0,131			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,157	0,095	0,223			
rs865686	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
rs704010	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	1	0,344	0,223	0,464			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	2	0,135	0,078	0,209			
rs4784227	1,19	1,09	1,31	1	0,174	0,086	0,270			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Paciente 34

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigrosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,13	0,08	0,18	3,42	2,14	4,76
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,09	0,04	0,13			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	2	0,31	0,19	0,45			
<i>rs1011970</i>	1,06	1,01	1,12	1	0,06	0,01	0,11			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	2	0,23	0,14	0,31			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,14	0,06	0,21			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,11	0,06	0,17			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			

Paciente 35

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigrosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23	3,89	2,73	5,03
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			

<i>rs10995190</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	2	0,33	0,23	0,43			
<i>rs614367</i>	1,13	1,07	1,19	1	0,12	0,07	0,17			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,07	0,03	0,10			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	2	0,72	0,60	0,85			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	2	0,31	0,21	0,40			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,34	0,22	0,46			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,25	0,21	0,29			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	2	0,49	0,33	0,66			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			

Paciente 36

<i>Polimorfismo</i>	OR	IC 95%	Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)			
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23	3,16	1,80	4,59
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	2	0,14	0,02	0,24			
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	1	0,08	0,03	0,12			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,09	0,04	0,13			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	2	0,10	0,00	0,19			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>rs614367</i>	1,13	1,07	1,19	1	0,12	0,07	0,17			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,07	0,03	0,10			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			

<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,34	0,22	0,46			
<i>rs10088218</i>	1,29	1,21	1,36	1	0,25	0,19	0,31			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	2	0,36	0,14	0,70			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,17	0,09	0,27			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,14	0,10	0,19			

Paciente 37

<i>Polimorfismo</i>	OR	IC 95%	Cigosisdad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)		
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,131	0,077	0,182	4,057	2,608	5,571
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	2	0,314	0,191	0,446			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,166	0,113	0,215			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,358	0,300	0,425			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,157	0,104	0,199			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,227	0,117	0,331			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,247	0,166	0,329			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,182	0,068	0,351			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	2	0,135	0,078	0,209			

<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,280	0,191	0,381			
------------------	------	-----	------	---	-------	-------	-------	--	--	--

Paciente 38

Polimorfismo	OR	IC 95%	Cigoidad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)		
rs11249433	1,14	1,08	1,2	2	0,26	0,15	0,36	3,08	1,79	4,47
rs4973768	1,07	1,01	1,13	2	0,14	0,02	0,24			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	2	0,31	0,19	0,45			
rs1011970	1,06	1,01	1,12	1	0,06	0,01	0,11			
rs865686	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs614367	1,13	1,07	1,19	1	0,12	0,07	0,17			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
rs8170	1,12	1,07	1,17	1	0,11	0,07	0,16			
rs704010	1,07	1,03	1,11	1	0,07	0,03	0,10			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	1	0,34	0,22	0,46			
rs3814113	1,28	1,23	1,33	1	0,25	0,21	0,29			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	2	0,36	0,14	0,70			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,14	0,10	0,19			

Polimorfismo	OR	IC 95%	Cigosidad	Scores	Paciente 39			BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
					Scores (IC 95%)					
rs11249433	1,14	1,08	1,2	2	0,26	0,15	0,36	3,71	2,36	5,12
rs13387042	1,2	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
rs865686	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs10995190	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs704010	1,07	1,03	1,11	1	0,07	0,03	0,10			
RS13281615	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
rs10822013	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
rs2981575	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
rs1219648	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
rs3817198	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			
rs4784227	1,19	1,09	1,31	1	0,17	0,09	0,27			
rs3112612	1,15	1,1	1,21	1	0,14	0,10	0,19			

Paciente 40										
Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigrosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,13	0,08	0,18	3,24	1,83	4,77
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	2	0,14	0,02	0,24			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs10995190</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	1	0,11	0,07	0,16			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,14	0,06	0,21			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,11	0,06	0,17			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	2	0,36	0,14	0,70			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	2	0,35	0,17	0,54			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,28	0,19	0,38			

Paciente 41										
Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigrosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23	3,53	2,24	4,86
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	2	0,15	0,06	0,24			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
<i>rs1562430</i>	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			

<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,07	0,03	0,10			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
<i>rs10088218</i>	1,29	1,21	1,36	1	0,25	0,19	0,31			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	2	0,28	0,19	0,38			

Paciente 42

<i>Polimorfismo</i>	OR	IC 95%		Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231	4,026	2,605	5,506
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	1	0,077	0,030	0,122			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs10995190</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,113	0,095	0,131			
<i>rs614367</i>	1,13	1,07	1,19	1	0,122	0,068	0,174			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	1	0,113	0,068	0,157			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	2	0,135	0,059	0,209			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,077	0,049	0,104			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	2	0,314	0,209	0,398			

<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs10088218</i>	1,29	1,21	1,36	1	0,255	0,191	0,307			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	2	0,494	0,414	0,570			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,113	0,058	0,166			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	2	0,365	0,135	0,701			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,068	0,039	0,104			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Paciente 43

Polimorfismo	OR	IC 95%	Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)		
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,13	0,08	0,18	4,59	3,01	6,17
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
rs10069690	1,08	1,03	1,13	1	0,08	0,03	0,12			
rs889312	1,09	1,04	1,14	2	0,17	0,08	0,26			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
rs1011970	1,06	1,01	1,12	1	0,06	0,01	0,11			
rs865686	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	2	0,33	0,23	0,43			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs704010	1,07	1,03	1,11	2	0,14	0,06	0,21			
RS13281615	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
RS2981579	1,43	1,35	1,53	2	0,72	0,60	0,85			
rs2072590	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
rs13393577	1,53	1,37	1,7	1	0,43	0,31	0,53			
rs4415084	1,17	1,11	1,22	1	0,16	0,10	0,20			
rs2180341	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
rs9485372	0,9	0,87	0,92	1	-0,11	-0,14	-0,08			
rs3814113	1,28	1,23	1,33	1	0,25	0,21	0,29			

<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	2	0,49	0,33	0,66			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	1	0,07	0,04	0,10			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,17	0,09	0,27			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,14	0,10	0,19			

Polimorfismo	Paciente 44									
	OR	IC 95%	Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)	BCS según fórmula de Hongyan Li		BCS (IC 95%)		
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	2	0,262	0,154	0,365	4,679	3,223	6,137
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,182	0,131	0,231			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,068	0,010	0,122			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	2	0,172	0,078	0,262			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,049	0,000	0,095			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	2	0,331	0,227	0,430			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,227	0,191	0,262			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	1	0,113	0,068	0,157			
<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,068	0,030	0,104			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	2	0,715	0,600	0,851			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,154	0,098	0,209			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,687	0,446	0,927			
<i>rs10088218</i>	1,29	1,21	1,36	1	0,255	0,191	0,307			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,247	0,207	0,285			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	2	0,494	0,331	0,659			
<i>rs3817198</i>	1,07	1,04	1,11	2	0,135	0,078	0,209			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,140	0,095	0,191			

Paciente 45

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigosis	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12	3,13	1,89	4,39
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	2	0,15	0,06	0,24			
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,09	0,04	0,13			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	2	0,10	0,00	0,19			
<i>rs865686</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
<i>rs8170</i>	1,12	1,07	1,17	1	0,11	0,07	0,16			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	2	0,31	0,21	0,40			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,34	0,22	0,46			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			
<i>rs4784227</i>	1,19	1,09	1,31	1	0,17	0,09	0,27			
<i>rs3112612</i>	1,15	1,1	1,21	1	0,14	0,10	0,19			

Paciente 46

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigosis	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
<i>rs11249433</i>	1,14	1,08	1,2	1	0,13	0,08	0,18	3,37	2,00	4,73
<i>rs13387042</i>	1,2	1,14	1,26	1	0,18	0,13	0,23			
<i>rs4973768</i>	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
<i>rs10069690</i>	1,08	1,03	1,13	2	0,15	0,06	0,24			

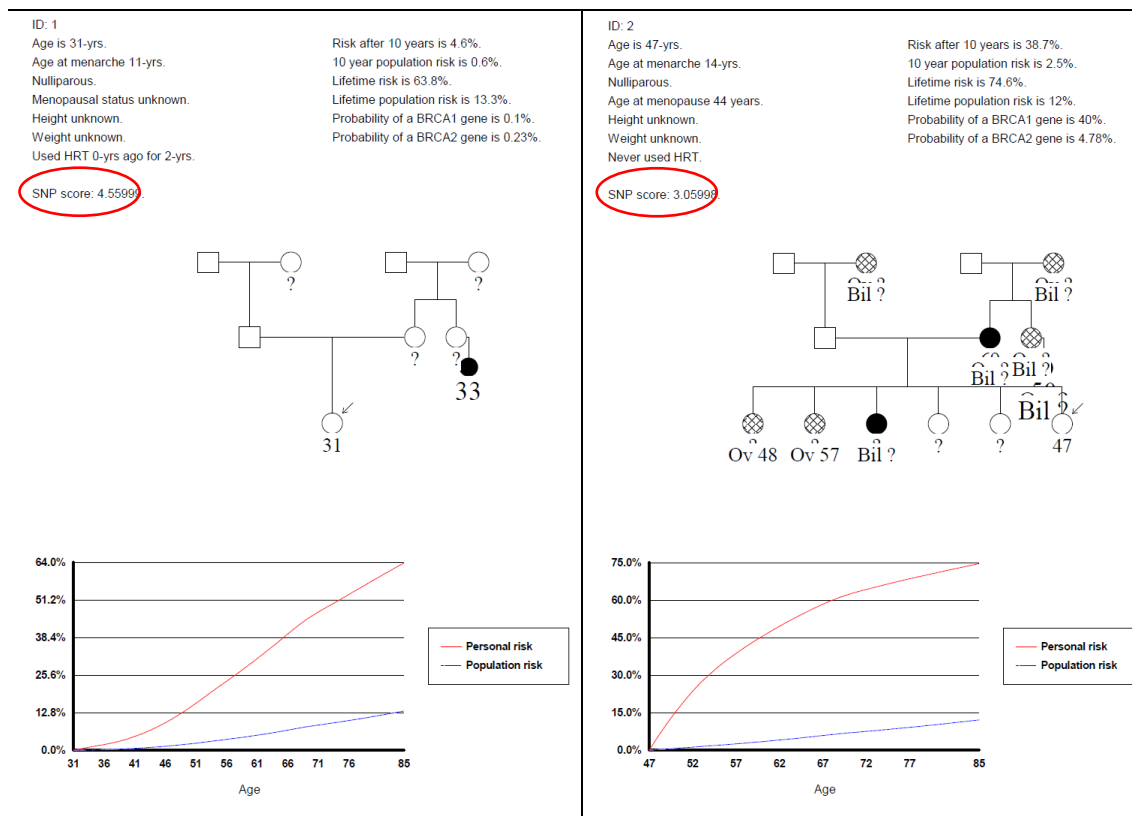
<i>rs889312</i>	1,09	1,04	1,14	1	0,09	0,04	0,13			
<i>rs2046210</i>	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
<i>rs1011970</i>	1,06	1,01	1,12	1	0,06	0,01	0,11			
<i>rs2981582</i>	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
<i>rs3803662</i>	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs4415084</i>	1,17	1,11	1,22	2	0,31	0,21	0,40			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	2	0,69	0,45	0,93			
<i>rs9485372</i>	0,9	0,87	0,92	2	-0,21	-0,28	-0,17			
<i>rs3814113</i>	1,28	1,23	1,33	1	0,25	0,21	0,29			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	1	0,11	0,06	0,17			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			

Paciente 47

Polimorfismo	OR	IC 95%		Cigosidad	Scores	Scores (IC 95%)		BCS según fórmula de Hongyan Li	BCS (IC 95%)	
rs11249433	1,14	1,08	1,2	1	0,13	0,08	0,18	2,76	1,73	3,83
rs4973768	1,07	1,01	1,13	1	0,07	0,01	0,12			
rs10069690	1,08	1,03	1,13	1	0,08	0,03	0,12			
rs2046210	1,05	1	1,1	1	0,05	0,00	0,10			
rs1562430	1,17	1,1	1,25	1	0,16	0,10	0,22			
rs865686	1,12	1,1	1,14	1	0,11	0,10	0,13			
rs2981582	1,18	1,12	1,24	1	0,17	0,11	0,22			
rs3803662	1,12	1,1	1,14	2	0,23	0,19	0,26			
rs8170	1,12	1,07	1,17	1	0,11	0,07	0,16			

<i>rs704010</i>	1,07	1,03	1,11	1	0,07	0,03	0,10			
<i>RS13281615</i>	1,08	1,05	1,11	1	0,08	0,05	0,10			
<i>RS2981579</i>	1,43	1,35	1,53	1	0,36	0,30	0,43			
<i>rs2072590</i>	1,08	1,05	1,11	2	0,15	0,10	0,21			
<i>rs2180341</i>	1,41	1,25	1,59	1	0,34	0,22	0,46			
<i>rs10822013</i>	1,12	1,06	1,18	2	0,23	0,12	0,33			
<i>rs2981575</i>	1,28	1,18	1,39	1	0,25	0,17	0,33			
<i>rs1219648</i>	1,2	1,07	1,42	1	0,18	0,07	0,35			

Anexo III. Árboles genealógicos y estimación del riesgo de las pacientes de la muestra experimental con IBIS RISK CANCER VS 8.0.

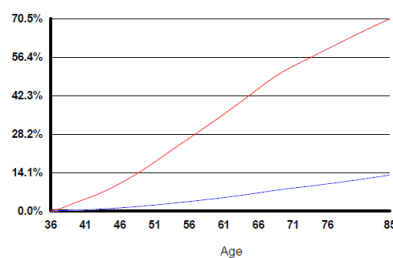
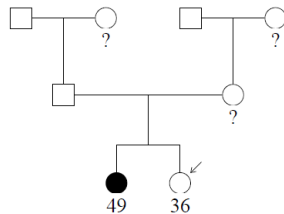


ID: 3

Age is 36-yrs.
Age at menarche 12-yrs.
No information about childbirth.
Age at menopause 50 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Used HRT 0-yrs ago for 0-yrs.

Risk after 10 years is 10%.
10 year population risk is 1.1%.
Lifetime risk is 70.4%.
Lifetime population risk is 13.2%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.28%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.42%.

SNP score: 3.99.

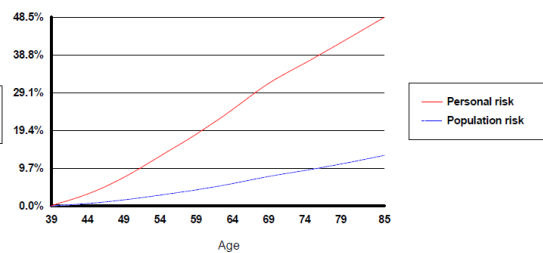
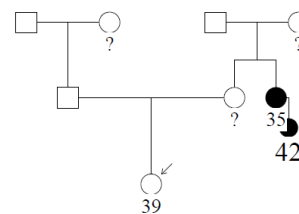


ID: 4

Age is 39-yrs.
Age at menarche 13-yrs.
Age at first birth 35-yrs.
Age at menopause 40 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Used HRT 1-yrs ago for 0-yrs.

Risk after 10 years is 7.3%.
10 year population risk is 1.5%.
Lifetime risk is 48.4%.
Lifetime population risk is 13%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.69%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.89%.

SNP score: 3.07001.

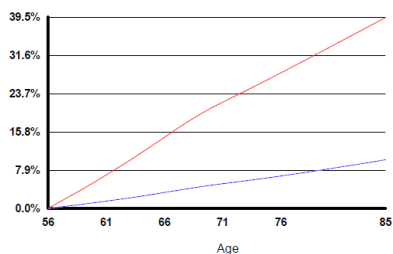
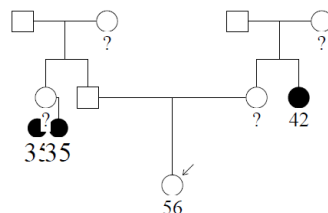


ID: 5

Age is 56-yrs.
Age at menarche 12-yrs.
Age at first birth 24-yrs.
Age at menopause 46 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

Risk after 10 years is 14.7%.
10 year population risk is 3.3%.
Lifetime risk is 39.4%.
Lifetime population risk is 10%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.27%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.51%.

SNP score: 3.51001.

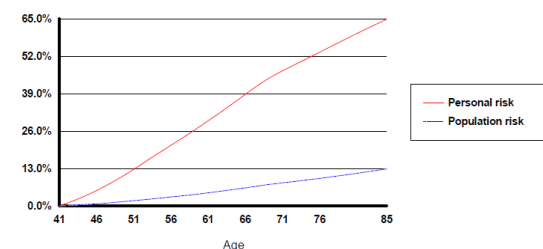
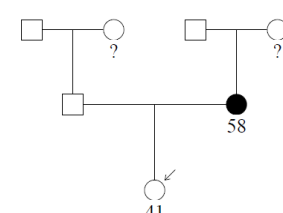


ID: 6

Age is 41-yrs.
Age at menarche 13-yrs.
Age at first birth 32-yrs.
Menopausal status unknown.
Height unknown.
Weight unknown.
Used HRT 3-yrs ago for 0-yrs.

Risk after 10 years is 12.7%.
10 year population risk is 1.8%.
Lifetime risk is 64.9%.
Lifetime population risk is 12.8%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.21%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.44%.

SNP score: 3.35.

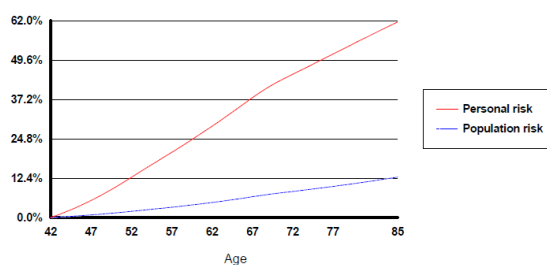
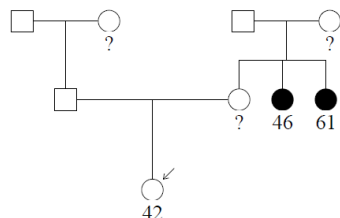


ID: 7

Age is 42-yrs.
Age at menarche 11-yrs.
Nulliparous.
Premenopausal.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

Risk after 10 years is 12.6%.
10 year population risk is 1.9%.
Lifetime risk is 61.6%.
Lifetime population risk is 12.7%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.12%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.28%.

SNP score: 3.46.

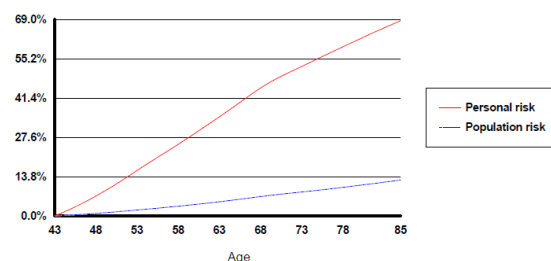
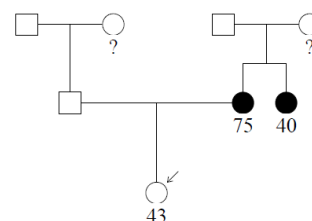


ID: 8

Age is 43-yrs.
Age at menarche 13-yrs.
Age at first birth 35-yrs.
Age at menopause 44 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

Risk after 10 years is 15.9%.
10 year population risk is 2%.
Lifetime risk is 68.6%.
Lifetime population risk is 12.6%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.24%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.65%.

SNP score: 3.46.

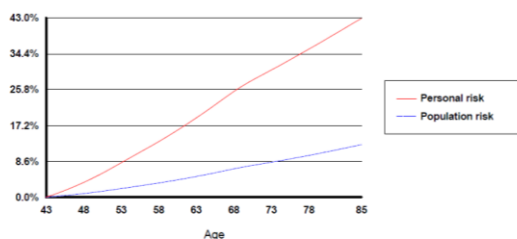
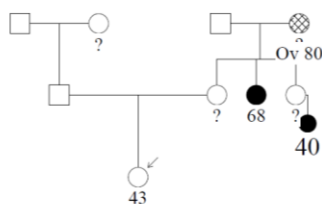


ID: 9

Age is 43-yrs.
Age at menarche 10-yrs.
Age at first birth 16-yrs.
Menopausal status unknown.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

Risk after 10 years is 8.2%.
10 year population risk is 2%.
Lifetime risk is 42.9%.
Lifetime population risk is 12.6%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.18%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.22%.

SNP score: 3.73001.

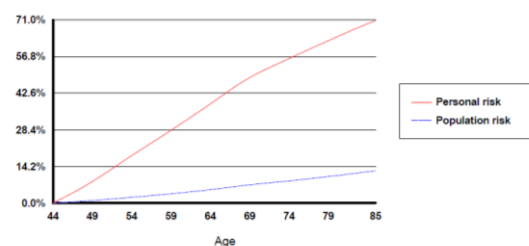
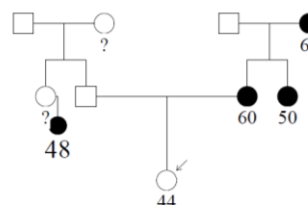


ID: 10

Age is 44-yrs.
Age at menarche 12-yrs.
Age at first birth 23-yrs.
Age at menopause 53 years.
Height unknown.
Weight unknown.
HRT used more than 5-yrs ago.

Risk after 10 years is 18.3%.
10 year population risk is 2.2%.
Lifetime risk is 70.8%.
Lifetime population risk is 12.5%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.63%.
Probability of a BRCA2 gene is 1.36%.

SNP score: 3.58999.

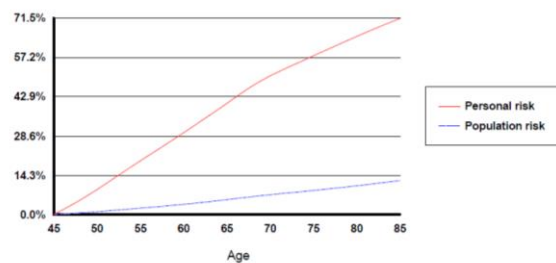
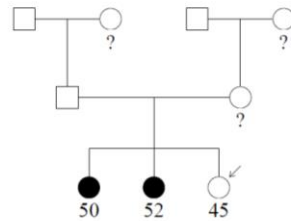


ID: 11

Age is 45-yrs.
Age at menarche unknown.
No information about childbirth.
Menopausal status unknown.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

Risk after 10 years is 19.5%.
10 year population risk is 2.3%.
Lifetime risk is 71.4%.
Lifetime population risk is 12.3%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.5%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.78%.

SNP score: 4.01

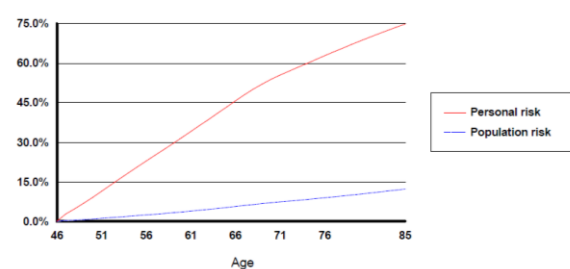
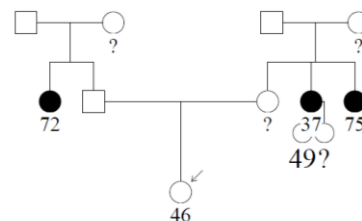


ID: 12

Age is 46-yrs.
Age at menarche 13-yrs.
Age at first birth 37-yrs.
Menopausal status unknown.
Height unknown.
Weight unknown.
Used HRT 1-yr ago for 5-yrs.

Risk after 10 years is 22.8%.
10 year population risk is 2.4%.
Lifetime risk is 74.9%.
Lifetime population risk is 12.2%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.07%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.33%.

SNP score: 4.25

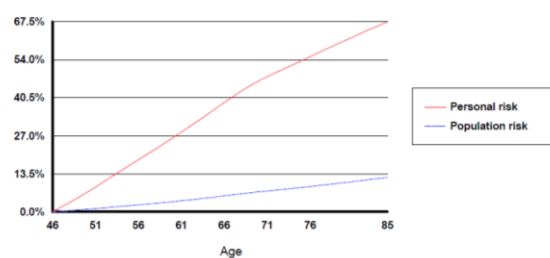
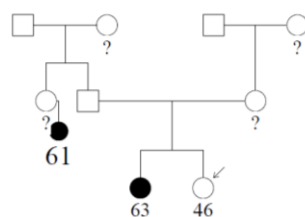


ID: 13

Age is 46-yrs.
Age at menarche 11-yrs.
Nulliparous.
Perimenopausal.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

Risk after 10 years is 18.4%.
10 year population risk is 2.4%.
Lifetime risk is 67.4%.
Lifetime population risk is 12.2%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.08%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.34%.

SNP score: 3.82

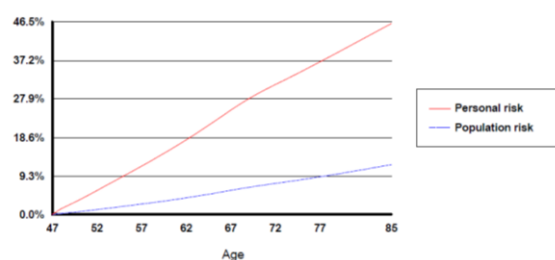
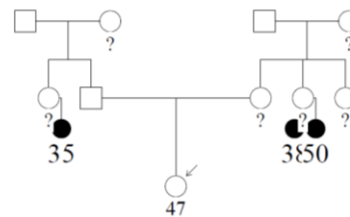


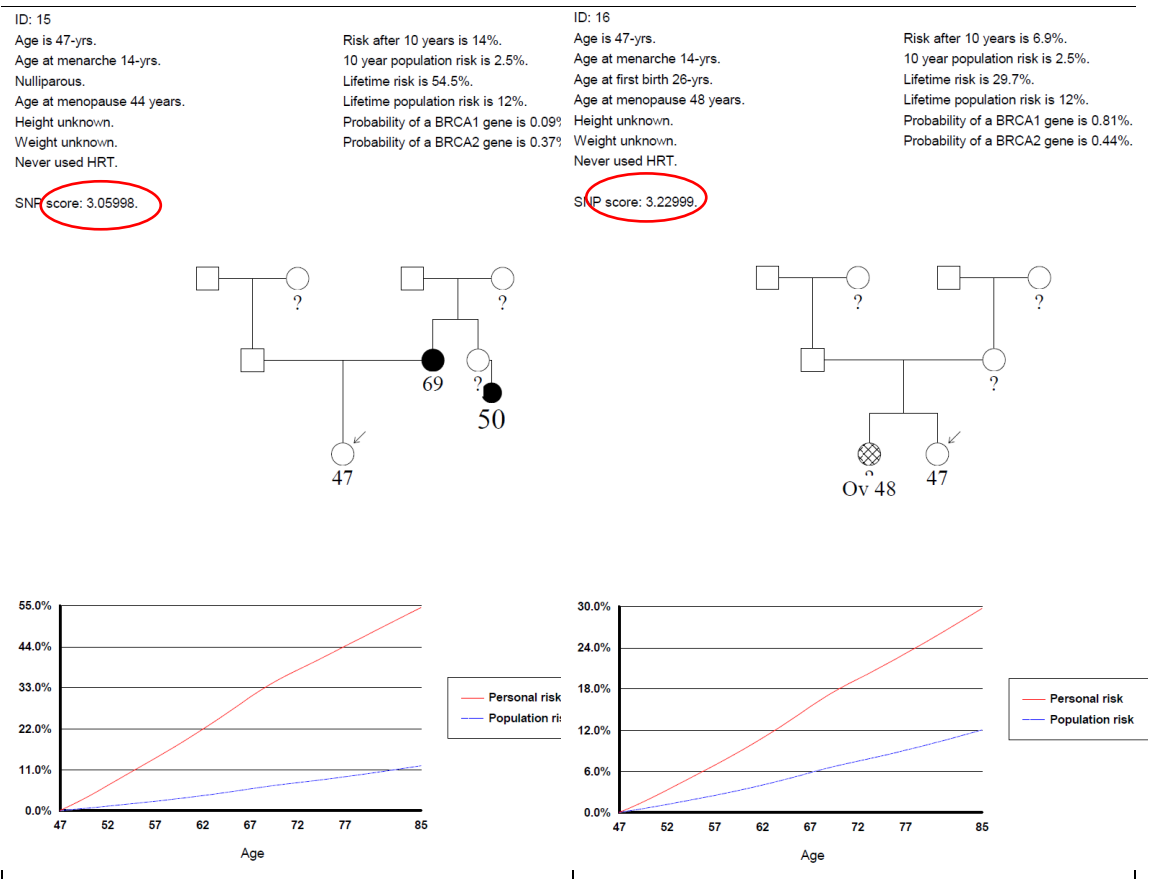
ID: 14

Age is 47-yrs.
Age at menarche 14-yrs.
Age at first birth 33-yrs.
Age at menopause 48 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Used HRT 1-yr ago for 0-yrs.

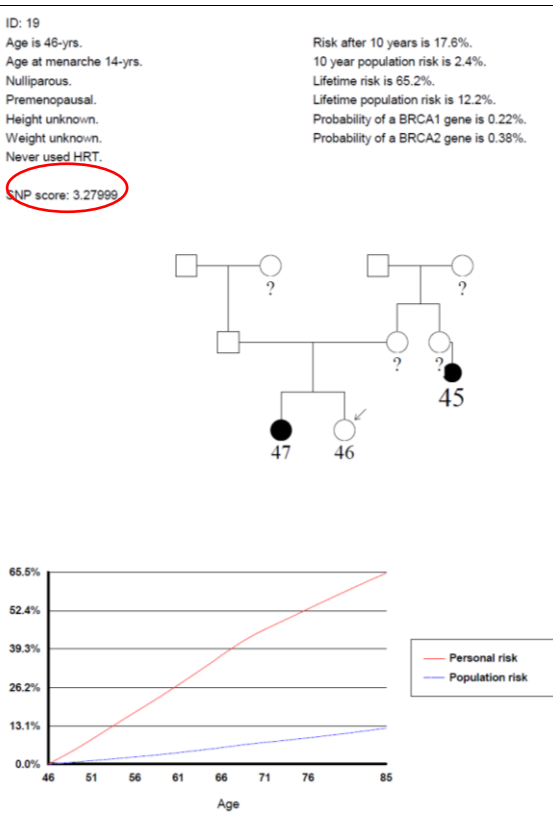
Risk after 10 years is 11.6%.
10 year population risk is 2.5%.
Lifetime risk is 46.1%.
Lifetime population risk is 12%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.08%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.25%.

SNP score: 3.51001

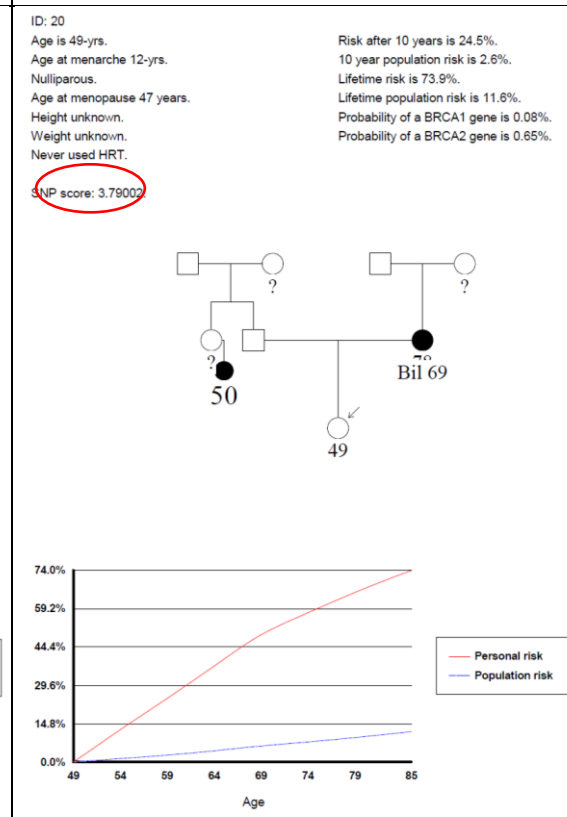




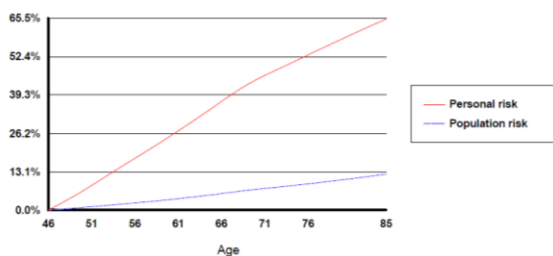
SNP score: 3.63999.



SNP score: 4.05001.

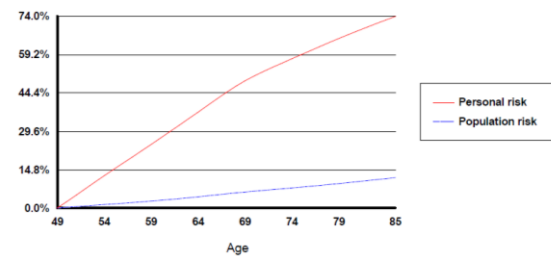


SNP score: 3.27999



SNP score: 3.79002

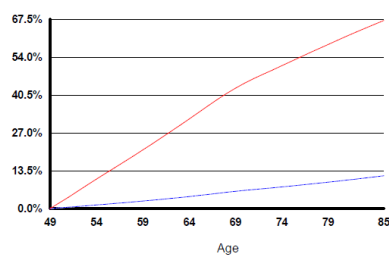
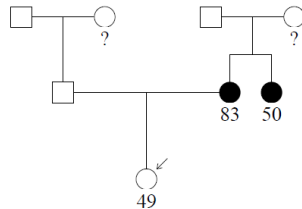
Figure 1. Pedigree chart showing the inheritance of the 5000bp allele. The chart shows three generations. Generation I consists of two couples. The first couple has a son (5000bp carrier) and a daughter (5000bp carrier). The second couple has a son (5000bp carrier) and a daughter (5000bp carrier). Generation II consists of a couple (5000bp carrier and 5000bp carrier) and a couple (5000bp carrier and 5000bp carrier). Generation III consists of a couple (5000bp carrier and 5000bp carrier) and a couple (5000bp carrier and 5000bp carrier). The 5000bp allele is indicated by a black dot on the individual's symbol.



ID: 21
Age is 49-yrs.
Age at menarche unknown.
Nulliparous.
Menopausal status unknown.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

SNP score: 3.48999

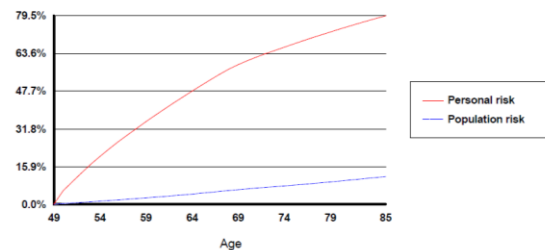
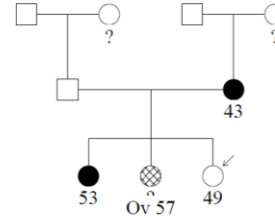
Risk after 10 years is 20.9%.
10 year population risk is 2.6%.
Lifetime risk is 67.1%.
Lifetime population risk is 11.6%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.11%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.4%.



ID: 22
Age is 49-yrs.
Age at menarche 14-yrs.
Age at first birth 34-yrs.
Menopausal status unknown.
Height unknown.
Weight unknown.
Used HRT 1-yr ago for 0-yrs.

SNP score: 3.82

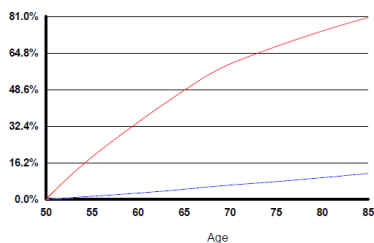
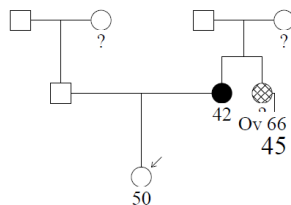
Risk after 10 years is 34.8%.
10 year population risk is 2.6%.
Lifetime risk is 79.5%.
Lifetime population risk is 11.6%.
Probability of a BRCA1 gene is 6.1%.
Probability of a BRCA2 gene is 8.41%.



ID: 23
Age is 50-yrs.
Age at menarche 12-yrs.
Age at first birth 33-yrs.
Age at menopause 53 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

SNP score: 4.30002

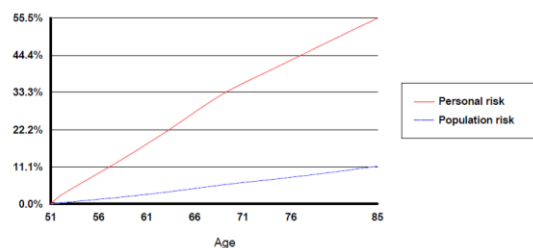
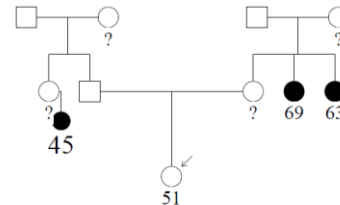
Risk after 10 years is 34.1%.
10 year population risk is 2.7%.
Lifetime risk is 80.5%.
Lifetime population risk is 11.4%.
Probability of a BRCA1 gene is 6.35%.
Probability of a BRCA2 gene is 1.16%.

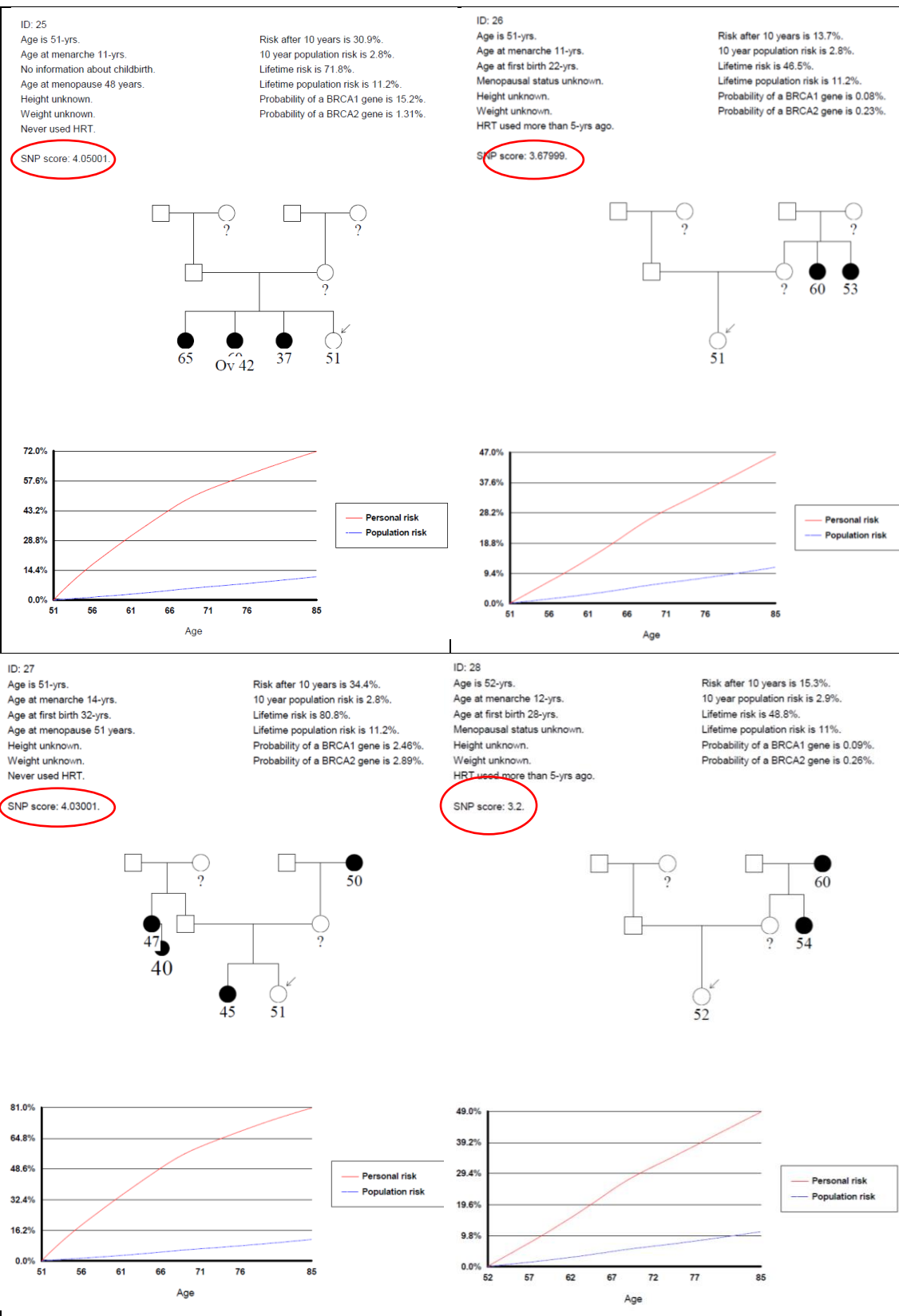


ID: 24
Age is 51-yrs.
Age at menarche 14-yrs.
Age at first birth 32-yrs.
Perimenopausal.
Height unknown.
Weight unknown.
Used HRT 1-yr ago for 0-yrs.

SNP score: 3.31998

Risk after 10 years is 17.8%.
10 year population risk is 2.8%.
Lifetime risk is 55.5%.
Lifetime population risk is 11.2%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.05%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.23%.

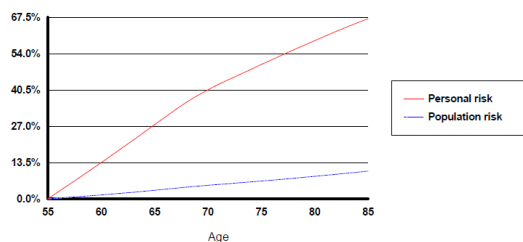
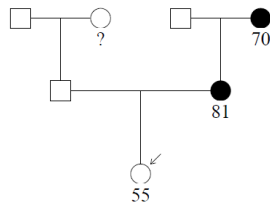




ID: 29
Age is 55-yrs.
Age at menarche 12-yrs.
Nulliparous.
Age at menopause 44 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

SNP score: 4.22999

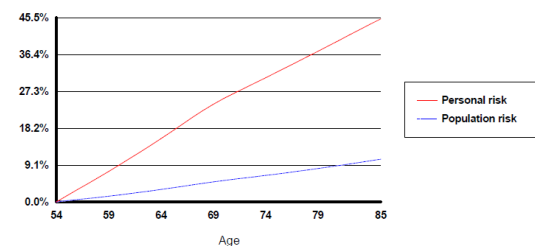
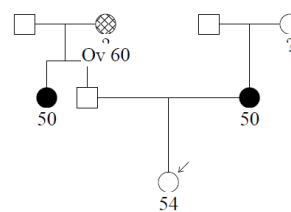
Risk after 10 years is 27.6%.
10 year population risk is 3.2%.
Lifetime risk is 67%.
Lifetime population risk is 10.3%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.05%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.4%.



ID: 30
Age is 54-yrs.
Age at menarche 13-yrs.
Age at first birth 19-yrs.
Age at menopause 42 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

SNP score: 3.84999

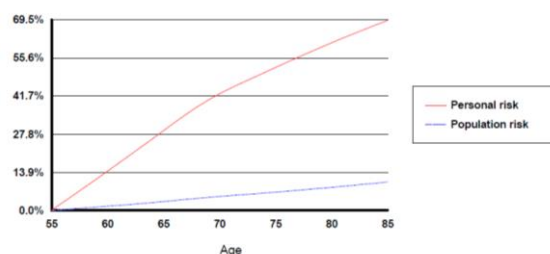
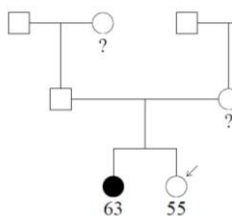
Risk after 10 years is 15.6%.
10 year population risk is 3%.
Lifetime risk is 45.2%.
Lifetime population risk is 10.5%.
Probability of a BRCA1 gene is 1.12%.
Probability of a BRCA2 gene is 1.32%.



ID: 31
Age is 55-yrs.
Age at menarche 13-yrs.
Nulliparous.
Age at menopause 49 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

SNP score: 4.14002

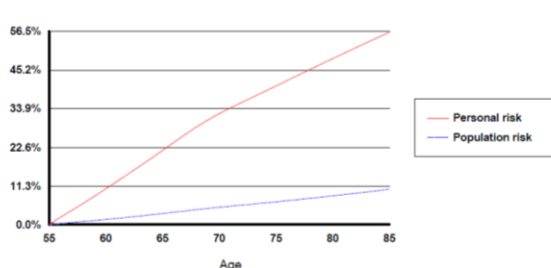
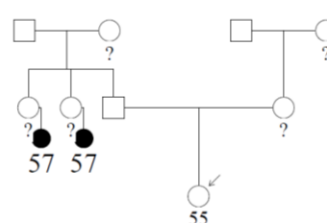
Risk after 10 years is 29%.
10 year population risk is 3.2%.
Lifetime risk is 69.3%.
Lifetime population risk is 10.3%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.19%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.56%.

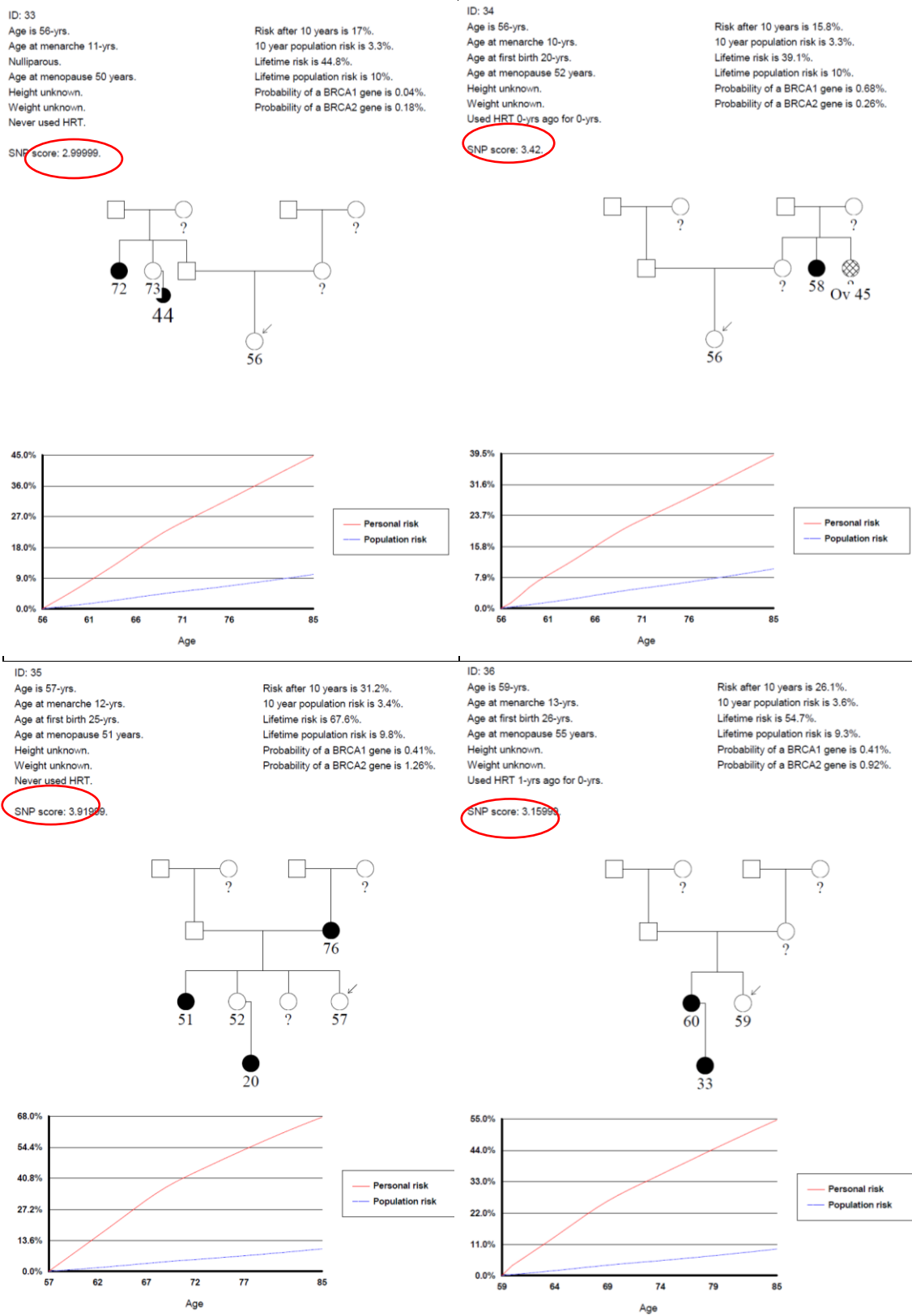


ID: 32
Age is 55-yrs.
Age at menarche 13-yrs.
Age at first birth 35-yrs.
Age at menopause 53 years.
Height unknown.
Weight unknown.
HRT used more than 5-yrs ago.

SNP score: 4.38999

Risk after 10 years is 21.6%.
10 year population risk is 3.2%.
Lifetime risk is 56.2%.
Lifetime population risk is 10.3%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.03%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.11%.

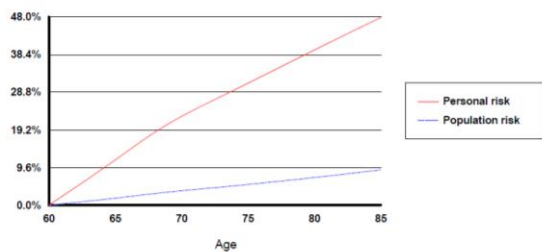
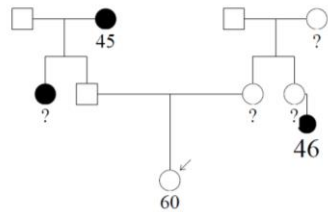




ID: 37
Age is 60-yrs.
Age at menarche unknown.
No information about childbirth.
Menopausal status unknown.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

SNP score: 4.05999.

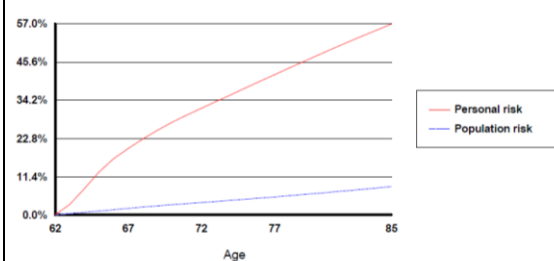
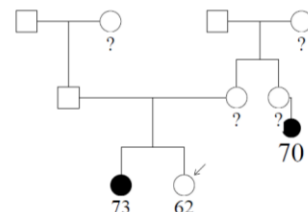
Risk after 10 years is 22.7%.
10 year population risk is 3.6%.
Lifetime risk is 47.8%.
Lifetime population risk is 9%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.38%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.63%.



ID: 38
Age is 62-yrs.
Age at menarche 12-yrs.
Age at first birth 31-yrs.
Age at menopause 54 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Used HRT 0-yrs ago for 0-yrs.

SNP score: 3.05

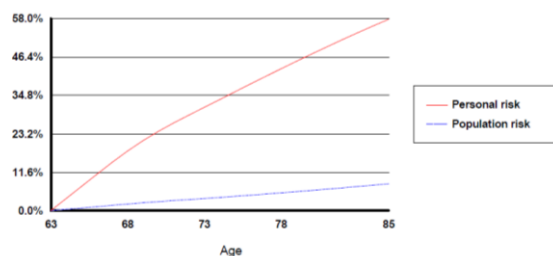
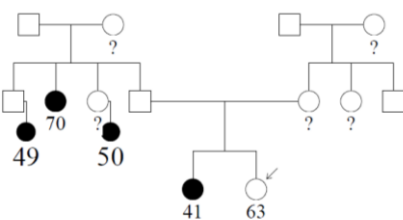
Risk after 10 years is 31.8%.
10 year population risk is 3.6%.
Lifetime risk is 56.9%.
Lifetime population risk is 8.4%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.03%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.19%.



ID: 39
Age is 63-yrs.
Age at menarche 12-yrs.
Age at first birth 24-yrs.
Age at menopause 55 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

SNP score: 3.75002

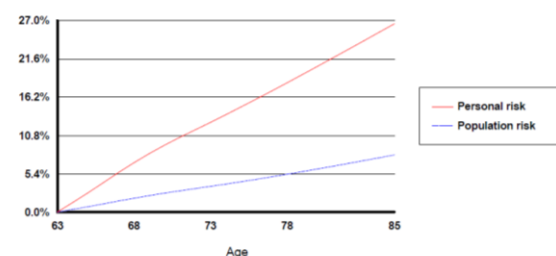
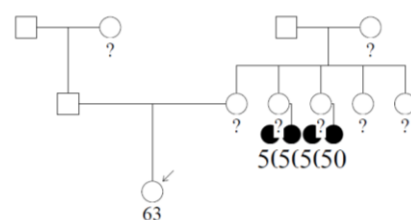
Risk after 10 years is 31.2%.
10 year population risk is 3.6%.
Lifetime risk is 57.8%.
Lifetime population risk is 8.1%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.22%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.5%.

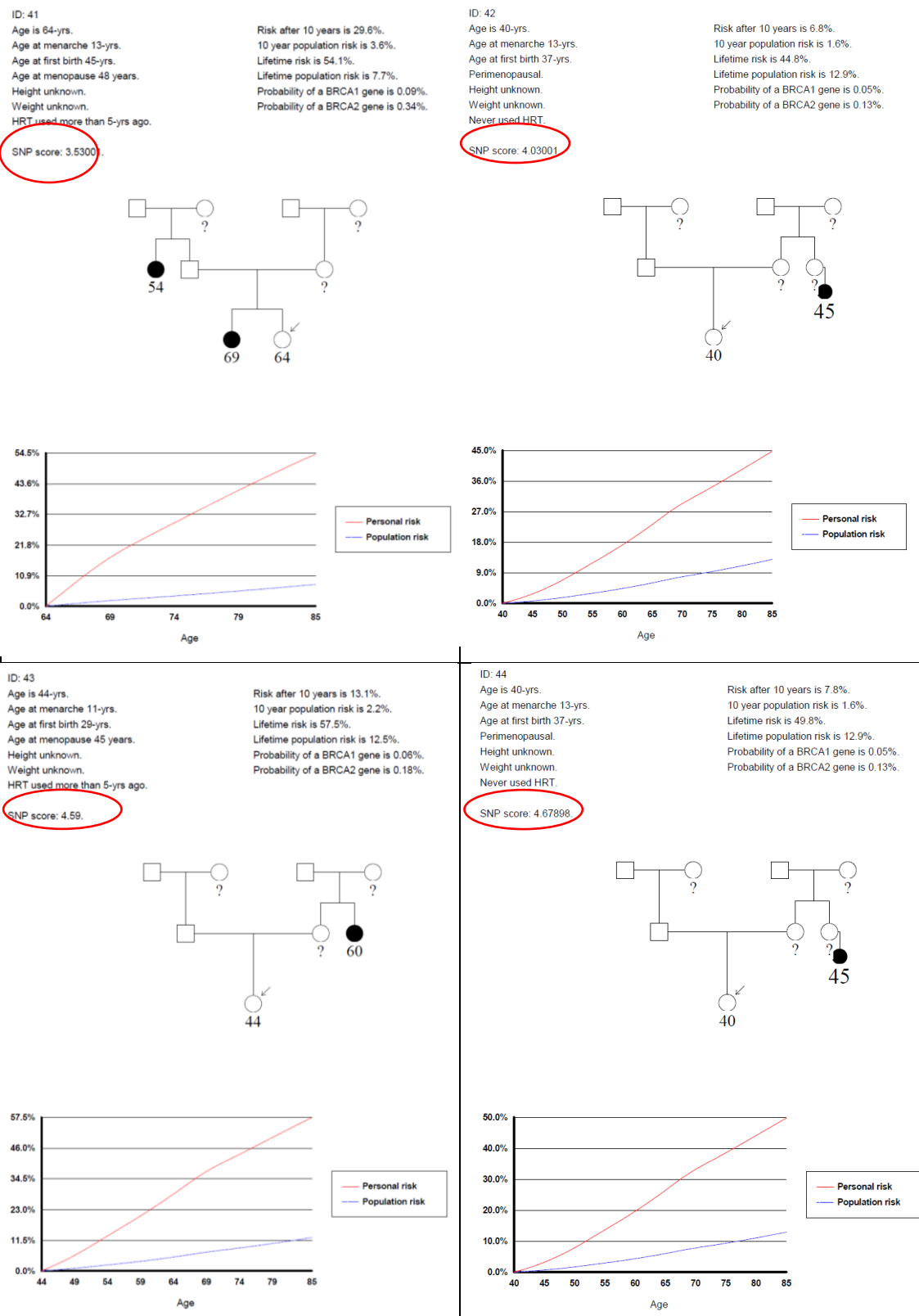


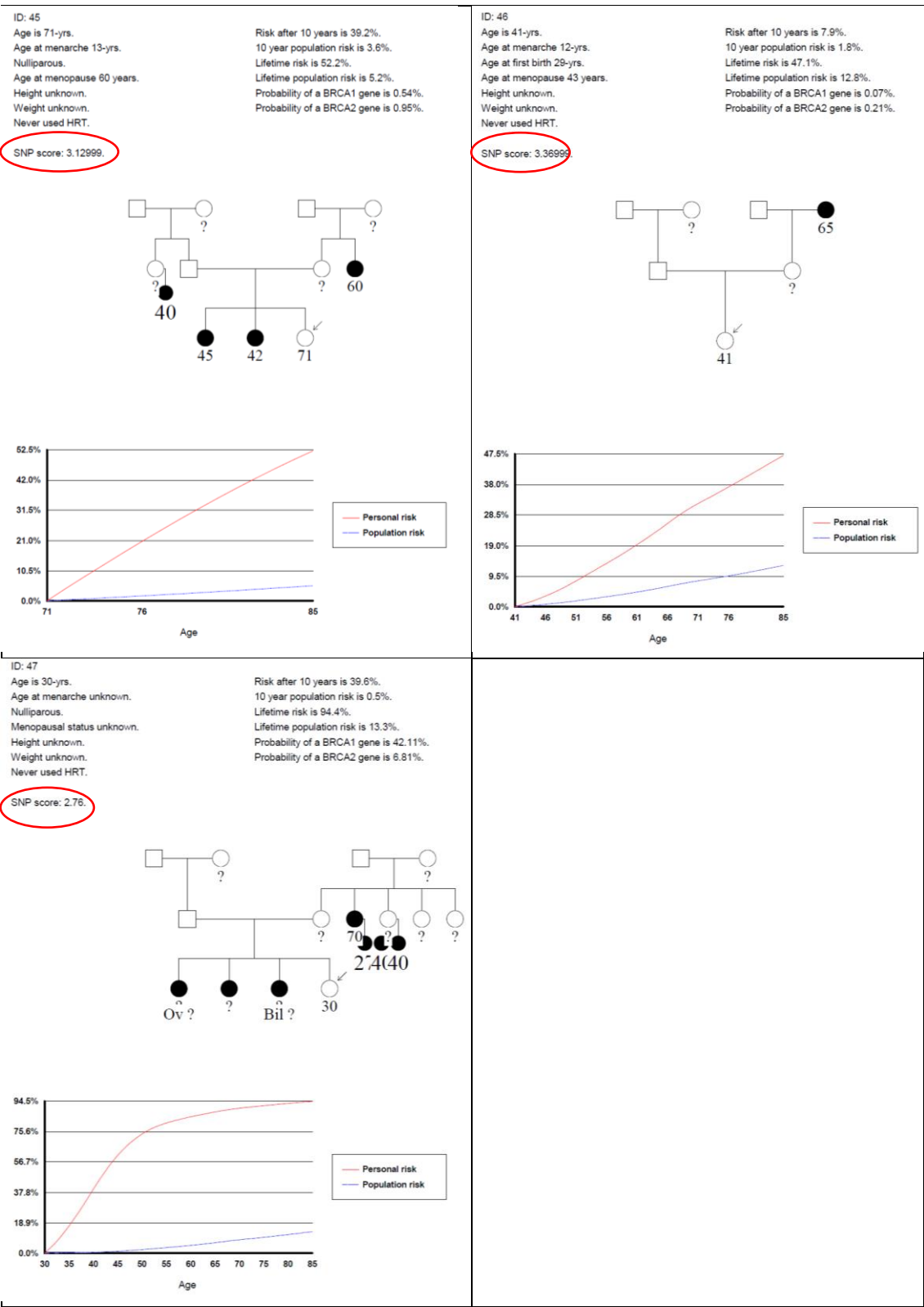
ID: 40
Age is 63-yrs.
Age at menarche 13-yrs.
Age at first child unknown.
Age at menopause 48 years.
Height unknown.
Weight unknown.
Never used HRT.

SNP score: 3.23999.

Risk after 10 years is 12.6%.
10 year population risk is 3.6%.
Lifetime risk is 26.6%.
Lifetime population risk is 8.1%.
Probability of a BRCA1 gene is 0.03%.
Probability of a BRCA2 gene is 0.14%.







Anexo IV. Publicaciones y ponencias relacionadas con la tesis doctoral

Rev Esp Med Legal. 2017;43(4):176–179



REVISTA ESPAÑOLA DE
MEDICINA LEGAL

www.elsevier.es/mlegal



CASO MÉDICO-FORENSE

Discusión ética y legal del asesoramiento genético en paciente portadora de una variación patológica en RAD51D



Natalia Fernanda Pascual Gómez^{a,*}, Fernando Bandrés Moya^b
y Concepción Alonso Cerezo^c

^a Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid, España

^b Departamento de Medicina Legal, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, España

^c Unidad de Cáncer Familiar, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España

Recibido el 1 de mayo de 2017; aceptado el 13 de junio de 2017

Disponible en Internet el 13 de julio de 2017

PALABRAS CLAVE

RAD51D;
Cáncer hereditario de
mama;
Cáncer hereditario de
ovario;
BRCA1;
BRCA2;
Asesoramiento
genético;
Aspectos
ético-legales

Resumen En el campo de la genética del cáncer, los avances en innovación tecnológica han ayudado a detectar variaciones patogénicas con baja prevalencia en la población en genes que todavía están en investigación, lo que significa que todavía hay poca evidencia científica disponible sobre el riesgo que estas variaciones podrían conllevar en cuanto a la susceptibilidad de desarrollar cáncer. La difícil tarea de asesorar genéticamente e informar del seguimiento, detección precoz y acciones profilácticas de estos casos, como el aquí expuesto, conlleva importantes implicaciones desde el punto de vista ético y legal sobre las que hay muy poco descrito en la literatura.

© 2017 Asociación Nacional de Médicos Forenses. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

RAD51D;
Hereditary breast
cancer;
Hereditary ovarian
cancer;
BRCA1;
BRCA2;

Ethical and legal discussion on genetic counselling in a carrier of a deleterious variation in RAD51D

Abstract In the field of the genetics of the cancer, advances in technological innovation have helped to detect low prevalence deleterious variation in genes within the population that still are under investigation. This means that little scientific evidence is available concerning the risk that these variations might constitute as regards the susceptibility of developing cancer. The difficult task of genetically assessing and reporting on the early detection, the prophylactic

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: nataliapascualgomez@ucm.es (N.F. Pascual Gómez).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.reml.2017.06.004>

0377-4732/© 2017 Asociación Nacional de Médicos Forenses. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.



CERTIFICADO DE PARTICIPACIÓN

N. Pascual Gómez, J.F. Quesada Espinosa, A. Arteche López, A. C. Muñoz Boyero, R. Ferreirós Martínez, M. de la Hoya, T. Caldés y C. Alonso Cerezo

Han participado con la comunicación titulada

**Mujer con cáncer de ovario portadora de mutación en
RAD51D c. 694C>T(p.ARG232X)**

en el XXVII Congreso Nacional de la AEGH
celebrado en Madrid del 10 al 12 de Abril de 2013.

Dr. Pablo Lapunzina
Presidente del Comité Organizador
Hospital Universitario La Paz

Dr. Miguel Ángel Moreno Pelayo
Presidente del Comité Organizador
Hospital Universitario Ramón y Cajal



D. Ricardo Sánchez Pérez, Presidente del Comité de Formación Continuada de la Asociación Española de Biopatología Médica, Certifica que el trabajo titulado:

**“ASPECTOS ÉTICO-LEGALES Y PSICOSOCIALES EN EL
ASESORAMIENTO GENÉTICO”**

Cuyos autores son: Natalia Pascual Gómez; Sergio Salguero Fernández; Fernando Bandrés Moya y M^a Concepción Alonso Cerezo, ha sido publicado en el “Manual de Asesoramiento Genético 2017”. Pág.: 7-29 (Páginas totales de la publicación: 185)

Para que así conste a los efectos oportunos firmo el presente certificado en Madrid, a veinte de febrero de 2017.

Fdo. Ricardo Sánchez Pérez

I.S.B.N: 978-84-617-8652-7

Título: Manual de Asesoramiento Genético 2017

Fecha de publicación: 20 de febrero de 2017

Editor: Asociación Española de Biopatología Médica

Maquetación: AEBM



XXVIII 13-15 DE MAYO DE 2015 · AUDITORIUM DE PALMA DE MALLORCA

CONGRESO NACIONAL DE GENÉTICA HUMANA - AEGH

XXIII REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE GENÉTICA CLÍNICA Y DISMORFOLOGIA

C-0132

CERTIFICADO DE COMUNICACIÓN

El Comité Organizador certifica que el Póster titulado:

IDENTIFICACIÓN DE PUNTOS CRÍTICOS EN LOS PROCESOS DE UNA UNIDAD DE CÁNCER FAMILIAR

de los autores:

NATALIA PASCUAL GÓMEZ; FERNANDO BANDRÉS ; CONCEPCIÓN ALONSO

ha sido presentado en el **XXVIII Congreso Nacional de Genética Humana**, celebrado en Palma de Mallorca los días 13 al 15 de mayo de 2015.

Y para que así conste, se expide el presente certificado en Palma de Mallorca a 15 de mayo de 2015.

Jordi Rosell Andreu
Presidente del Comité Organizador
XXVIII Congreso Nacional AEGH

Juan Cruz Cigudosa
Presidente de la Asociación Española
de Genética Humana



SECRETARÍA TÉCNICA T 34 96 352 48 89 - F 34 96 394 25 58
genetica@geyseco.es - www.geyseco.es

www.geyseco.es/aegh2015



CERTIFICADO

DRA NATALIA PASCUAL GOMEZ ha participado en el Curso
MODELO ASISTENCIAL EN ENFERMEDADES RARAS DE ORIGEN GENETICO con la PONENCIA
ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES.

Celebrado en el Hospital Universitario de la Princesa el 16/11/2015 con una duración de **0.30 minutos**

Actividad acreditada por la Comisión de Formación Continuada de las profesiones sanitarias de la Comunidad de Madrid
(Expte. 07-AFOC-05507.5/2015 – 3'1 créditos – 20 horas lectivas)

Para que conste a los efectos oportunos, el presente certificado es emitido y firmado en Madrid a 19 de Noviembre de 2015

<p>COORDINADOR DE FORMACIÓN  DR. RAMON MORENO BALSALOBRE</p>	<p>COORDINADORA DEL CURSO  DRA. CONCEPCIÓN ALONSO CEREZO</p>	<p>DIRECTOR GERENTE  DR. MIGUEL A. ANDRES MOLINERO</p>
---	---	---



AEBM - Medicina de laboratorio

CON EL AVAL DE



AEGH
Asociación Española de Genética Humana
www.aegh.org



SEOM
Sociedad Española de Oncología Médica

Asociación Española de Biopatología Médica

Miembro de la European Association of Clinical Pathology
Miembro del European Council For Clinical and Laboratory Standards (ECCLS)
Miembro de la World Association of Societies of Pathology (WASP)
Miembro de la Union Européenne des Médecins Spécialistes (UEMS)

D^a Concepción Alonso Cerezo, Presidente del Comité de Formación Continuada de la Asociación Española de Biopatología Médica (AEBM),
Certifica que:

Natalia Pascual

Ha participado, como Ponente, en la XXX Jornada de Formación Interhospitalaria del Laboratorio Clínico: "Asesoramiento genético en cáncer hereditario" que, organizada por esta Asociación Científica se ha celebrado en Madrid el día 26 de mayo de 2015, con una duración de 5, 30 horas lectivas.

Actividad docente, con número de expediente 07-AFOC-02039.4/2015, acreditada por la Comisión de Formación Continuada de las Profesiones Sanitarias de la Comunidad de Madrid-Sistema Nacional de Salud, con 1,2 créditos de Formación Continuada para las siguientes profesiones: Medicina, Farmacia, Bioquímica (Especialidad Sanitaria) y Biología (Especialidad Sanitaria).

Y, para que así conste a los efectos oportunos, expido el presente Certificado en Madrid a 26 de mayo de dos mil quince.

Dra. Concepción Alonso Cerezo
Presidente CFC

* Enseñanza no reglada y sin carácter oficial.

Asociación Española de Biopatología Médica
C/ Condado de Treviño, n° 2, Portal 2, Local 1 - 28033 MADRID - Tel.: 91 302 22 12 / 24 33 - Fax: 91 302 23 51
Internet: <http://www.aebm.org> - E-mail: aebm@aebm.org

Anexo V. Hoja de información al paciente y modelo de CI del proyecto



HOJA DE INFORMACION AL PACIENTE

“RASTREO MUTACIONAL DE VARIANTES GENÉTICAS EN PACIENTES DE ALTO RIESGO CON SÍNDROME HEREDITARIO DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO FAMILIAR”

INTRODUCCIÓN:

Nos dirigimos a Ud. para informarle de un estudio que estamos realizando de forma conjunta la Universidad Complutense de Madrid, Genética Clínica y el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario de la Princesa. Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir.

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO:

Los síndromes de cáncer hereditario tienen distintos perfiles de cáncer. Sin embargo, el solapamiento de tumores entre estos síndromes dificulta la identificación del gen más apropiado a estudiar para cada paciente. Debido a la mayor frecuencia de sus alteraciones, los genes *BRCA1* y *BRCA2* se consideran los principales factores genéticos del síndrome de cáncer de mama y ovario hereditario (SCMOH) y su estudio se ha incorporado mediante el asesoramiento genético a la práctica clínica. Sin embargo, estos genes presentan variantes deletéreas que explican aproximadamente el 20% de los casos que acuden a las consultas de cáncer familiar, quedando aún un amplio porcentaje por explicar la etiología.

Se ha demostrado la existencia de variantes patogénicas en otros genes asociados a riesgo de cáncer de mama y que no se suelen estudiar a nivel asistencial.

Con la incorporación de nuevas tecnologías de secuenciación y ultrasecuenciación, es más accesible la búsqueda de estos otros genes implicados en esta patología.

Y es por ello que solicitamos su autorización para incluirle en el proyecto de investigación, consultar su historia clínica, analizar la existencia de variantes genéticas en 94 genes objeto de estudio y 284 polimorfismos de un único nucleótido asociadas con la predisposición al cáncer y asesorarles en consulta de genética respecto a los resultados obtenidos así como a contactarles para evaluar la gestión de la información recibida.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.

Usted se beneficiará del análisis de 94 genes y 284 polimorfismos asociados con la predisposición al cáncer que actualmente no se realizan de forma habitual y rutinaria en nuestro centro.

Si su análisis genético es positivo se le informará sobre el riesgo existente, la información sobre las opciones terapéuticas disponibles en su caso concreto, así como de las alternativas de prevención y detección precoz disponibles en la actualidad.

En ocasiones se puede obtener un resultado que denominamos incierto porque se identifica una variante de la que desconocemos su significado o repercusión clínica con la evidencia científica actualmente disponible. En este caso le informaremos de la posibilidad de llevar a cabo estudios adicionales y de las medidas de detección precoz y prevención que deberían adoptarse según el conocimiento científico actual.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA.

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio alguno en su tratamiento.

CONFIDENCIALIDAD.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. Según la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones legales. De conformidad con la normativa vigente en materia de protección de datos, usted consiente expresamente a la inclusión de los datos de su historia clínica, así como los resultantes de su participación en el estudio, en el fichero de investigación cuyos responsables son los investigadores principales del estudio. La finalidad del fichero es exclusivamente la realización

de estudios de investigación clínica. El acceso a su información personal con respecto al estudio quedará restringida a los investigadores del proyecto.

DERECHO A LA INFORMACIÓN Y A NO SER INFORMADO

De acuerdo a la ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica, usted tiene derecho a ser informado sobre los datos genéticos de carácter personal que se obtengan del análisis genético, para obtener dicha información deberá dirigirse a los investigadores del proyecto. En caso de que usted ejerza su derecho a no ser informado de los resultados del análisis genético sólo se utilizará la información con fines de investigación en relación a este estudio.

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

De acuerdo a la ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica, usted podrá revocar este consentimiento en cualquier momento sin tener que dar explicaciones y sin que esto tenga ninguna repercusión en la asistencia médica que reciba o pueda recibir usted o sus familiares en el centro.

IMPLICACIÓN QUE EL ANÁLISIS GENÉTICO PUEDE TENER PARA SUS FAMILIARES Y COMPROMISO DE SUMINISTRAR CONSEJO GENÉTICO

Una vez obtenidos y evaluados los resultados del análisis genético, se le informará de las repercusiones de dicho hallazgo, tanto para usted como para sus familiares, y si procede, se le garantiza el asesoramiento genético adecuado en la forma en la que reglamentariamente está establecida. En cualquier caso se respetará su criterio y las decisiones que usted adopte.

Cuando se ha identificado una variante, debe saber que otros miembros de su familia pueden también haberla heredado. Los investigadores no contactarán con ellos por propia iniciativa para advertirles de esta circunstancia, ya que esta información es estrictamente confidencial. Es responsabilidad suya informar a dichos familiares con el fin de que, si ellos lo desean, puedan ser valorados y estudiados. Tanto para usted como para sus familiares, y si procede, se le garantiza el asesoramiento genético adecuado en la forma en la que reglamentariamente está establecida.

COMPENSACIÓN ECONÓMICA.

Ni los investigadores ni el centro han recibido ninguna contribución económica por el desarrollo del presente estudio. Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto. Este proyecto está financiado por la Universidad Complutense de Madrid mediante la ayuda PR41/17-20957 para la compra del material necesario para el análisis.

PREGUNTAS/INFORMACION

Si usted tiene cualquier pregunta sobre el estudio, puede contactar con los Investigadores Principales del estudio. Natalia F. Pascual Gómez Concepción Alonso Cerezo (tfnº: 915202249)
Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Atentamente,

Dra. Natalia F. Pascual Gómez y Dra. Concepción Alonso Cerezo

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio:

“RASTREO MUTACIONAL DE VARIANTES GENÉTICAS EN PACIENTES DE ALTO RIESGO CON SÍNDROME HEREDITARIO DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO FAMILIAR”

Yo con

DNI..... como paciente o como testigo o en representación del

paciente.....

-He leído la hoja de información que se me ha entregado.

-He podido hacer preguntas sobre el estudio.

-He recibido suficiente información sobre el estudio.

-Comprendo que mi participación es voluntaria.

- He recibido copia del presente documento.

-Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1. Cuando quiera
2. Sin tener que dar explicaciones
3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Declaro que, el/la facultativo, D/Dª.

Me ha explicado de forma satisfactoria:

- para qué sirve esta prueba de investigación, en qué consiste y cómo se realiza,
- qué consecuencias tiene conocer los posibles resultados,
- en qué me puede beneficiar el asesoramiento genético
- los riesgos existentes,
- las alternativas a su no realización.
- el manejo de las muestras y de los resultados

-Entendido todo lo anterior **doy mi consentimiento para:**

- | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|
| • A ser incluida y participar en el proyecto de investigación | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> |
| • A que los resultados se publiquen, preservando mi identidad | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> |
| • A que utilicen la muestra almacenada para la realización del test genético o en caso necesario se proceda a la extracción de nueva muestra | SI <input type="checkbox"/> | NO <input type="checkbox"/> |

- A que me realicen dicha prueba genética, (que realicen al paciente D/Dª. SI ☐ NO ☐
..... con DNI
... dicha prueba).
- A que el material sobrante se utilice para investigación SI ☐ NO ☐
->Como muestra identificada o identificable
->Solo si no es posible conocer mi identidad
- A recibir información de los resultados relevantes de la investigación en la SI ☐ NO ☐
consulta de genética
- A que se evalúe la capacidad de gestionar la información recibida y a ser SI ☐ NO ☐
contactada a los 3 meses de recibirla.

En Madrid, a
.....

Fdo: El/la Paciente

Fdo: El/la investigador

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el voluntario.

Anexo VI. Premios y ayudas concedidas

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID

Tfno.: 91 394 34 50/55; Fax: 91 394 34 45
Correo e.: sinvproy@ucm.es

PROPUESTA DE RESOLUCIÓN

De acuerdo con lo establecido en el art. 6, apartado 6.3, de la convocatoria 2017 de Proyectos de Investigación Santander-Universidad Complutense de Madrid, y teniendo en cuenta el informe de la Comisión evaluadora, se propone la concesión de la siguiente financiación:

Referencia: PR41/17-20957

Investigador Principal: FERNANDO BANDRES MOYA

Departamento: **FACULTAD DE MEDICINA**

Centro: **FACULTAD DE MEDICINA**

Título: RASTREO MUTACIONAL DE VARIANTES GENÉTICAS EN PACIENTES DE ALTO RIESGO CON SÍNDROME HEREDITARIO DE CÁNCER DE MAMA Y OVARIO FAMILIAR

Importe concedido: **8000 €** Evaluación: B (8)

El plazo de ejecución del proyecto será de un año, a partir de la fecha de publicación de la resolución definitiva de concesión (art. 3.4).

La gestión económica, de acuerdo con el punto 3.5 de la convocatoria, se realizará a través de la Sección de Asuntos Económicos de la **FACULTAD DE MEDICINA**.

La distribución económica del proyecto quedará a criterio del investigador, de acuerdo con el presupuesto que presentó en la memoria de la solicitud inicial, y siguiendo las normas de ejecución presupuestaria de la UCM.

Cualquier modificación en las condiciones iniciales de concesión necesitará la autorización previa del vicerrector de investigación (punto 8.3).

En el plazo de dos meses desde la fecha de finalización de la ayuda, deberá presentar de oficio, en el Servicio de Investigación, el informe final en el impreso normalizado, acompañado de certificación económica (punto 8.4).

Dispone hasta de un plazo de 10 días para comunicar al Servicio de Investigación la aceptación de la propuesta devolviendo al Servicio de Investigación este documento firmado y/o formular las alegaciones que considere oportunas, pero se ruega que lo presente cuanto antes para no demorar la resolución definitiva. Transcurrido dicho plazo sin que se haya recibido contestación por su parte, se entenderá que acepta la propuesta.

Madrid, 22 de noviembre de 2017

Ignacio Lizasoain Hernández

VICERECTOR DE POLÍTICA CIENTÍFICA, INVESTIGACIÓN Y DOCTORADO

.....
.....



**XXVII Congreso Nacional de la
Asociación Española de Genética Humana**

aEGH

**10 - 12 de Abril de 2013
Madrid. (Mejía Castilla)**

La Comunicación

**Mujer con cáncer de ovario portadora de mutación RAD51D
c.694C>T(p.Arg231X)**

De Natalia Pascual Gómez

ha obtenido una

BECA AEGH A LA MEJOR COMUNICACIÓN

Madrid, 12 de Abril de 2013


Pablo Lapunzina
 Presidente del Comité Organizador
 Hospital Universitario La Paz


 Asociación Española
 de Genética Humana
www.aegh.org


Miguel Ángel Moreno Pelayo
 Presidente del Comité Organizador
 Hospital Universitario Ramón y Cajal

